

Revue des Vers à Soie

Journal of Silkworms

Publiée par la Commission Séricicole Internationale
Published by the International Sericultural Commission
25, quai Jean-Jacques Rousseau - 69350 La Mulatière - France

Directeur Gérant
Rédacteur en Chef
Rédacteur Adjoint

H. BOUVIER
G. CHAVANCY
A. FOURNIER

Managing Director
Chief Editor
Deputy Editor

COMITE DE REDACTION
EDITORIAL BOARD

- | | |
|---|--|
| AKAPANTHU S. (Thaïlande / <i>Thailand</i>) | LIU S.-X. (Chine / <i>China</i>) |
| BEAULATON J. (France) | LU H.-S. (Chine / <i>China</i>) |
| BECK D. (France) | MANO Y. (Japon / <i>Japan</i>) |
| BOSQUET G. (France) | MAUCHAMP B. (France) |
| COUBLE P. (France) | PERSOONS C.J. (Pays-Bas / <i>Netherlands</i>) |
| DANDIN S.B. (Inde / <i>India</i>) | PRUDHOMME J.-C. (France) |
| DAS B.C. (Inde / <i>India</i>) | REALI G. (Italie / <i>Italy</i>) |
| DATTA R.K. (Inde / <i>India</i>) | SHIMURA K. (Japon / <i>Japan</i>) |
| DOIRA H. (Japon / <i>Japan</i>) | SHIRATA A. (Japon / <i>Japan</i>) |
| FONSECA T.C. (Brésil / <i>Brazil</i>) | SOMASHEKAR T.H. (Inde / <i>India</i>) |
| FOURCHE J. (France) | SONWALKAR T.N. (Inde / <i>India</i>) |
| FREDDI G. (Italie / <i>Italy</i>) | TAKAHASHI R. (Brésil / <i>Brazil</i>) |
| GOLDSMITH M.R. (USA) | TAZIMA Y. (Japon / <i>Japan</i>) |
| HORIE Y. (Japon / <i>Japan</i>) | TRENCZEK T. (Suisse / <i>Switzerland</i>) |
| IATROU K. (Canada) | VAGO C. (France) |
| JOLLY M.S. (Inde / <i>India</i>) | VEY A. (France) |
| KOBAYASHI M. (Japon / <i>Japan</i>) | XIA J.-G. (Chine / <i>China</i>) |
| KRISHNASWAMY S. (Inde / <i>India</i>) | YAMASHITA O. (Japon / <i>Japan</i>) |
| LEA H. Z. (Corée / <i>Korea</i>) | YANAGAWA H. (Japon / <i>Japan</i>) |
| LEGAY J.-M. (France) | |

INTEGRATED DISEASE MANAGEMENT SYSTEM IN MULBERRY

S. BISWAS*, S.K. SEN & T. PAVAN KUMAR**

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, India.

Keywords: Mulberry, disease control, cultural practices, host resistance, natural enemies, fungicides, antibiotics, insecticides.

INTRODUCTION

Mulberry, being perennial in nature, is often affected by a large number of diseases caused by various groups of pathogens. Diseases cause considerable amounts of leaf loss both quantitatively and qualitatively (Rangaswami *et al.*, 1976). In many cases, the diseased leaves or the leaves of the diseased plants are consumed by the silkworm (*Bombyx mori* L.) without processing. There is thus a high cost penalty for adopting a management system which leads to any increase of disease damage to the plants. The high price of disease-controlling chemicals and disaster due to their toxic effects on silkworms tends to reduce the use of chemicals. Due to these economic and technical constraints the pressure for adopting integrated disease management systems in moriculture is certain to increase.

The concept of integrated management systems has been developed by entomologists when, in the late 1950s, a number of problems arose in the use of insecticides to control pests. Two of these problems were the development of resistance to insecticides and a growing awareness of the extent of the environmental hazards associated with their use. The incidence of such problems emphasized that attempts to combat a pest by a single strategy are often doomed to failure from the start. As a result, more comprehensive, integrated systems of pest control have been developed. Integrated control involves management systems which consider the interaction amongst the whole range of organisms with beneficial, neutral and pest or pathogen status, the long-term aim being to increase the level of pest or disease suppression which is achieved by a natural way (Dickinson and Lucas, 1977; Tait, 1987). This particularly means a control strategy in which a variety of cultural, biological and chemical control measures are combined to give stable, long-term pest or disease control that will facilitate to escape many well-documented adverse consequences due to the rising use of toxic chemicals like fungicides, antibiotics and insecticides.

Following the introduction of integrated pest management (IPM) systems, in the field of pest research the concept of this approach has captured the interest and imagination of biologists throughout the world. On the contrary, microbial plant pathologists have not yet begun to take the same degree of interest in this concept of disease control. Indeed, although some schemes have been instituted for particular diseases, this idea is still not yet widely discussed in plant pathology treatises. However, it is generally suggested that satisfactory control of most plant diseases requires integration of several procedures including manipulation of environment. In mulberry pathology, progress in the fundamental areas of research appropriate to IPM is considerable. Hence, in the present treatise the research findings on mulberry diseases which are suited to integrated management systems are

* Present address: Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734 301, West Bengal, India.

** Present address: Silkworm and Mulberry Germplasm, Hosur - 635 009, Tamil Nadu, India.

appraised with an aim to get comprehensive knowledge of that in order to implement IPM systems in mulberry.

PROTECTION THROUGH CULTURAL PRACTICES

Disease control by cultural methods includes some of the oldest control practices such as special cultivation and manuring to encourage vigorous plant growth, so that its escapement from disease is facilitated, and farm sanitation. Modified management practices lead to the alteration of environment that is less favourable for the pathogen and pest vector invasion, their survival and dispersal and to achieve reduction in disease severity. Moreover, these can be closely associated with ordinary farm management practices and can be simple and inexpensive, being incorporated into agronomic systems with only slight modifications on routine management practices. In fact, some of these methods have become so closely incorporated with cultivation practices that they are no longer recognized as disease control tactics.

(i) Site selection:

Soil type, climate and altitude may control the health and vigour of the mulberry plant and its use as a host by pathogens. Moreover, the physical characteristics of the soil, such as temperature, moisture content and texture, have an impact on the occurrence and survival of pathogenic microorganisms in the soil. The environment chosen for a given mulberry plantation can, therefore, be of importance in determining the ability of the plant to withstand pathogenic attack. For example, volcanic ash soils are more in favour of the development of the violet root rot disease caused by *Helicobasidium mompa* than alluvial and tertiary rock soils (Leki, 1972), suggesting the need of root rot resistant varieties for the former one. Similarly, care should also be taken for raising mulberry plants following the underlying incidences. Mulberry dwarf disease caused by a mycoplasma-like organism (MLO) which is transmitted through a vector rhombic marked leaf-hopper, *Hishimonas sellatus* Uhler, is found maximum in plains, while in mountainous areas, in spite of the presence of this vector in all the fields, the disease fails to occur. Even if it occurs, the incidence is very low and in very few mulberry plants (Ishijama, 1968; Zedginidze, 1975). The MR-2 mulberry variety has been found resistant to powdery mildew under hill conditions (Pillai and Jolly, 1985), while, in plains, its resistance level is comparatively low (Govindaiah *et al.*, 1989b). The bacterial blight pathogen, *Pseudomonas syringae* pv *mori* (= *P. mori*), survives for a long time in soils consisting of particles of smaller size than in soils consisting of particles of larger size (Sato and Takahashi, 1973).

(ii) Planting density:

It is evident from the works of Govindaiah *et al.* (1990b) that the severity of the leaf spot (*Cercospora moricola*), powdery mildew (*Phyllactinia corylea*) and leaf rust (*Cerotelium fici*) diseases of mulberry is higher in closer spacing (60 × 30 cm) than in wider spacing (120 × 75 cm). But the evidence has little or no practical value in controlling mulberry diseases since the primary object in spacing mulberry plants is to maximize the leaf yield per unit area without reducing the leaf quality and yield advantages, therefore, override the effect of the planting density on the disease incidence or damage.

(iii) Digging and solarization:

The main object of digging in a mulberry field is to loosen the soil so as to allow the rain water to percolate into the soil and for a better aeration and nitrification (Rangaswami *et al.*, 1976). However, from the pathological point of view, it also plays a significant role in controlling many diseases of mulberry. Repeated digging in the field before and after plantation, especially just after pruning of mulberry, facilitates soil solarization which may help to eradicate many disease-causing soil microorganisms by increasing the soil temperature by short-wave radiation (mostly shorter than 2 μm) from the sun and sky that would be appropriate to a radiator at about 6000 °K (Marshall and Holmes, 1979). The work in apple orchards also indicates that the possible eradication of the white root rot disease caused by the pathogen (*Rosellinia necatrix*) of mulberry is by way of digging and solarizing

soils, as the disease caused by *R. necatrix* in apple was greatly diminished by soil solarization (Freeman *et al.*, 1990). In mulberry, more or less similar observations were also made in some investigations. For example, Tahama (1978) observed that the intensity of the dwarf disease was mild at high light intensity and severe at low light intensity. Saito *et al.* (1978) found that the decrease in survival of pathogens of mulberry twig blight, i.e. *Fusarium lateritium* f sp. *mori* and *F. solani* f sp. *mori* in soil was more remarkable from spring to summer than from autumn to winter, indicating that rising of soil temperature is not in favour of the pathogens. Jolly (1987), in Karnataka, suggested to adopt digging and clipping side roots after 'Aswina' commercial crop for nematode disease control. In addition, Sengupta *et al.* (1990) advised to adopt deep digging in summer to kill nematode eggs and larvae by strong sunlight and high soil temperature, which may also be effective to minimize basidiospores of *H. mompa* remaining in the soil (Itoi, 1941).

(iv) Sanitation and farm hygiene:

Eradication of harmful weed hosts, the timely destruction of fallen diseased leaves and twigs, and removal of shelter in which vector insects harbour reduce the incidence of many diseases. Askerova (1963) suggested to clear off fallen mulberry leaves by digging for controlling the brown spot disease (= leaf spot) caused by *Cylindrosporium mori*. Hutton (1961) reported that all fallen leaves and pruned dead ends of twigs should be burnt for the control of leaf spot (= false rust, caused by *Septogloeum mori*) and bacterial diseases of mulberry. Additional evidence on mulberry indicates that removal of weeds which harbour pathogens of the nematode (*Meloidogyne incognita*) and dwarf diseases (Kawakita and Ishie, 1976; Govindaiah *et al.*, 1989a), fallen leaves which bear cleistothecia of *P. corylea* and pathogen of bacterial blight disease (Akoi, 1959; Kubomora and Nakayama, 1975) and dead branches which contain *H. mompa* spores (Itoi, 1941) are effective to control these diseases. Moreover, eradication of mosaic-diseased mulberry plants (Srisomchai and Brown, 1971) and clipping and burning of tukra-affected shoot tips (Sengupta *et al.*, 1990) are suggested as effective control measures for them. However, the evidence of Sukumar and Ramalingam (1989) that removal of leaf spot (*C. moricola*) infected leaves before commencement of sporulation in controlling the disease would be of no practical value since keen observation on all the leaves of mulberry is not possible in the case of rapidly spreading diseases like leaf spot.

(v) Pruning:

In mulberry, pruning is practiced solely to improve the yield of foliage and to maintain the shape of the plant for early harvest of the leaves for silkworm rearing. It also improves the feeding value of the leaves by minimizing disease severity. As early as the 1920s it was observed that bacterial blight, also known as 'aal seco' or 'flacheroto' disease in Italy, caused by *Bacterium mori* (= *P. syringae* pv *mori*), was controlled by pruning the infected branches at an early stage (Savastano, 1923). Rhind (1924) suggested to control powdery mildew (*P. corylea*) by cutting diseased bushes followed by spraying a suitable fungicides. However, more recent studies indicate that spade pruning before the commencement of the powdery mildew prevailing season is the most effective control method for the disease (Biswas *et al.*, 1992c). Since spade pruning (known as 'Chaliamara', 'Chakmamara' or 'Mathemara' in West Bengal, India) helps to remove stumps and superficial roots and eventually decreases the intensity of the primary inoculum. Moreover, this pruning practice may be effective to minimize inoculum density of the dwarf disease as the pathogen (MLO) remains latent in stumps and roots (Miyashita and Yamada, 1982). On the other hand, pruning at different crown heights (15, 30 and 40 cm) has no impact on the incidence of mulberry leaf diseases (Govindaiah *et al.*, 1990b), although it is reported that the crown heights beyond 30 cm lead to minimize the collar root disease incited by *Scerotium rolfsii* (Dayakar Yadav and Kasturibai, 1988).

(vi) Irrigation, mulching, manuring and fertilization:

These practices, in general, promote rapid growth and shorten the susceptible stage of the plant, giving it a better tolerance and opportunity to compensate for disease damage. At the same time they, especially manuring and fertilization, can change the physiology of the plant, which makes it easier for the plant to overcome both infectious (Akoi and Matsuno, 1959; Anonymous, 1972b) and non-infectious (Rangaswami *et al.*, 1976; Sengupta *et al.*, 1990) diseases. However, fertilization and

manuring are mainly practiced to increase productivity and to improve quality of leaves without considering the effects of pathogen attack. In spite of this, the dosage of manures and fertilizers, which has been determined depending upon the system of planting, age of plants, spacing and soil type, controls several physiological disorders such as chlorosis and weak growth by nitrogen, marginal scorching by potassium, intraveinal chlorosis by phosphorus, necrosis and defoliation of young leaves by calcium, chlorosis and necrotic spots on leaves by magnesium and slight chlorosis with a general lack of new growth by sulphur (Rangaswami *et al.*, 1976), and may be effective to provide some degree of tolerance to pathogenic attack. It is evident that addition of nitrogen (urea) is effective to prevent *R. necatrix* from adhering to organic matter which is applied to the mulberry field. Potassium and magnesium may decrease the violet root rot disease. Moreover, the dwarf disease does not favour potassium fertilizer and organic manures (Anonymous, 1972b).

On the contrary, irrigation alone has no positive effect in mulberry disease control. It increases bacterial blight disease incidence (Anonymous, 1938). Some indirect evidence also suggests that it may have some positive roles on the occurrence of the leaf spot disease and germination of conidia of both powdery mildew and fusarium blight pathogens, rising humidity in the fields (Itoi *et al.*, 1960; Saito and Matuo, 1977; Siddaramaiah *et al.*, 1978a; Leu and Lee, 1982). Furthermore, the high water content in mulberry plants, which obviously happens in irrigated fields, may increase *P. corylea* spore formation (Biswas *et al.*, 1992b). However, in spite of this, its combined effect with manuring and fertilization promotes rapid growth and reduces disease severity in the fields, forming more resistant young leaves. For instance, a survey report from West Bengal, India, indicates that powdery mildew disease severity was lower in irrigated mulberry fields (Biswas *et al.*, 1992c).

As to the effect of mulching on the control of mulberry disease Govindaiah *et al.* (1990c) have found that mulching of green leaves of pongamia and neem in soil decreases both the number of root knots and egg masses of nematode (*M. incognita*) and, eventually, increases leaf yield. Sikdar *et al.* (1983, 1986) have suggested to mulch neem oil cake (1 tonne/ha) 4 times a year in order to minimize the use of chemicals. Toida (1978) observed nematocidal activity of marigold roots. Thus, the growing of marigold plants in nematode-infested fields and their mulching after a certain period of growth may also be a very effective control measure for the disease.

BIOLOGICAL CONTROL

The role of naturally occurring enemies has been studied for a number of pathogens and pests and, in many cases, they have been shown to play a significant role in reducing disease incidence. One such example is that the most popular fungal species, *Ampelomyces quisqualis*, which parasitizes many powdery mildews belonging to different genera, is tolerant of many fungicides and is currently used to control powdery mildews and other plant diseases (Sztejnberg *et al.*, 1989). The hyperparasite, in the biotrophic phase of parasitization, interferes with energy metabolism, protein synthesis, cell wall synthesis and, possibly, regulation of the host. Thus, eventually, it degenerates the host, depleting the energy reserves (Phillip, 1985). In mulberry also, some natural enemies which showed possibilities for their effective utilization in disease control have been identified. For example, Sukumar and Ramalingam (1986) have found that the phylloplane microorganisms, i.e., *Cladosporium cladosporioides*, *Curluvria lunata* and *Pseudomonas maltophilia*, are strong antagonists to *C. moricola* both under *in vitro* and *in vivo* conditions. Moreover, from the available evidence it seems that *C. cladosporioides* and *C. lunata*, especially the former one, may be effective to control the powdery mildew disease in mulberry since both these fungal species are known to reduce the powdery mildew (*Erysiphe polygoni*) disease in pea (Srivastava and Bist, 1983) and the former one (*Cladosporium* sp. as per the literature concerned) is reported to be parasitized on the mulberry powdery mildew fungus, *P. corylea* (Rao and Sullia, 1981). Besides, the evidence of Freeman *et al.* (1986) that an isolate (T-8) of *Trichoderma harzianum* is effective to reduce *Rosellinia necatrix* in both artificially and naturally infected soils steadily over 4 and 6 weeks' periods, respectively, provides additional information which may be applicable to control the white root rot disease in mulberry.

Apart from the biocontrol microorganisms, several coccinellid (Coleoptera) insects play a significant role in mulberry disease control. In Japan, protection of the larvae (grubs) of yellow and

white spotted lady beetles which appear in June and thereabouts and devour mycelia and conidia of powdery mildew has been suggested (Anonymous, 1972b). In West Bengal, India, both grubs and adults of the yellow lady beetle, whose scientific name is *Illeis indica* Timb., are found to live on the spores and mycelia of *P. corylea* (Bhattacharya *et al.*, 1994). Further, Bhattacharya *et al.* (*op. cit.*) have found that the adults are more voracious eaters than grubs. Mildew-cleared leaves and normal leaves are equally eaten by silkworms and roughly give the same amount of silk. From Karnataka, India, Reddy *et al.* (1989) reported a different species (*I. cincta*) of the genus as a voracious eater of mildew colonies. In addition, release of 8-10 predacious beetles of *Cryptolaemus montrouzieri* during early infestation of 'Tukra' has been suggested as an effective measure for minimizing the population of the disease-causing organism, *Maconelicoccus hirsutus* (Janarthanan and Dhaira Beevi, 1990; Sengupta *et al.*, 1990).

DEVELOPMENT OF HOST RESISTANCE

(i) Genetically controlled resistance:

Establishment of disease-resistant varieties for the control of disease is of great importance in moricultural practices since the cost of other means of control and the environmental hazards due to the excessive use of fungicides or pesticides can be minimized or avoided. A large body of evidence also suggests that several mulberry varieties carrying single or multiple disease resistance are available all over the world (Biswas and Sengupta, 1994; and the references therein). These varieties are mainly developed by methods like selection (Bhinai, 1987; Govindaiah *et al.*, 1989b), hybridization (Shablovskaya *et al.*, 1977; Nikuradze, 1982) and mutation both by radiation (Nakajima, 1972, 1973; Fujita, 1974; Fujita and Wada, 1983; Katagiri *et al.*, 1976) and chemical (Katagiri *et al.*, 1976; Kozikova, 1979) treatments. However, so far no attempt towards the development of multiple resistance in a suitable variety with the aid of tissue culture technique (Walker, 1965) has been taken due to the lack of knowledge on the physiology and genetics of resistance. In spite of this, some high-yielding varieties show multiple disease resistance and may be suggested for cultivation at the places where they are suited. For example, the mulberry varieties 'Tbilisuri', 'Galicea' and 'Arzu' are resistant to mulberry diseases in general (Csaiciu, 1971; Dzharafarov *et al.*, 1977); 'Kenmochi' is resistant to twig blight and bacterial diseases (Anonymous, 1972b; Shirata *et al.*, 1979); 'Buriram-60' is resistant to powdery mildew and mosaic (Anonymous, 1988a); 'S54', 'S36', 'S799', 'OPH-1', 'AB × Phill' and 'MR-2' are resistant to leaf spot and powdery mildew (Pillai and Jolly, 1985; Boraiah *et al.*, 1987; Pasha and Barman, 1988; Anonymous, 1989-90; Govindaiah *et al.*, 1989b, 1990a; Biswas *et al.*, 1992a, 1993) and 'Ykishirazu' is resistant to powdery mildew and dieback (Kushibuchi, 1976).

Several additional high-yielding mulberry varieties showing resistance to different diseases may also be used for cultivation at the places where a given disease is dominant. These varieties include 'Ukraine-510' which is resistant to brown spot disease (Mulov and Kozikova, 1972); 'BSMR-4' to powdery mildew (Pasha and Barman, 1990); 'Fukayuki' to dieback (Hazama, 1968; Matsuno *et al.*, 1987); 'Husang', 'Shinichinose', 'Hyatesakari' and 'Minamisakari' to bacterial blight (Hida *et al.*, 1978, 1982; Takahashi, 1980; Pathan, 1987; Akhtar and Sarwar, 1988); 'Iveriya' and 'Samgoruli' to bacterial leaf curl (Berdzenidze, 1973); 'Akhalkartali 1', 'Rioni', 'Digmoskaya-125', 'Imeruli-1' and 'Imeruli-2' to dwarf disease (Shablovskaya *et al.*, 1979, 1980; Shablovskaya, 1981; Kvachadze and Kakuliya, 1985) and C763 and S1 to tukra (Anonymous, 1990).

(ii) Induced host resistance:

Development of host resistance with the help of phytoalexin inducers (elicitors) is a new approach in mulberry disease control (Biswas, 1991; Biswas and Sengupta, 1993). This is based upon the knowledge that several biotic (fungal and plant cell walls and microbial enzymes) and abiotic (heavy metals and UV light) agents act as elicitors (Darvil and Albersheim, 1984) which on application can accumulate increased amounts of antimicrobial compounds of low molecular weight, i.e., phytoalexins, and create both static defence and dynamic defence potentials in the host against a possible attack from the pathogen. Moreover, in mulberry, considerable ranges of benzofuran and stilbenes are found as phytoalexins (Takasugi *et al.*, 1980, 1982; Shirata *et al.*, 1982; Burke *et al.*, 1985; Bose, 1989; Matsuyama *et al.*, 1991) which are formed within 12 hours of infection

and their formation takes place over about 4 days (Shirata and Takahashi, 1982). Most of the phytoalexins inhibit many species of fungi and bacteria, including pathogens of mulberry. The antifungal activity of Moracin-A, Moracin-C and Moracin-D and the antibacterial activity of Moracin-M are very strong (Shirata *et al.*, 1978, 1982).

CHEMICAL CONTROL

Although in the foregoing text cultural and biological control measures, including the use of host resistance, have been shown to be effective against most of the mulberry diseases, it is possible that the use of these methods may fail to provide the desired level of disease control and additional precautions in the form of chemical protection may be necessary. In fact, chemical protection is inseparable from an integrated planning against many diseases. However, the use of chemicals should not be considered as a routine management programme. It should be adopted only when needed to prevent economic damage at the correct time for maximum effectiveness, which in turn will minimize the problems created by overuse and misuse of chemicals.

(i) Treatments of soils and other sources of inoculum:

The removal of pathogens from the soils by means of chemicals is the most important step towards the control of root diseases of mulberry. Accordingly, soil fumigation by the volatile organic compound, chloropicrin, @ 450 g/m² is suggested to control both violet and white root rot diseases of mulberry, caused by *H. mompa* and *R. necatrix*, respectively (Matuo and Sakurai, 1959; Kubomura *et al.*, 1970; Rangaswami *et al.*, 1976). But its use at field level is still not popular since this method is highly expensive and cannot be adopted in established mulberry gardens. On the contrary, the soil fungicide, pentachloronitrobenzene (PCNB), which is sold under the trade names 'Brassicol', 'Terror', 'Botrilex', 'Tritisan', etc., is found to be suitable and applicable for the control of the root rot disease and other soil-borne fungal pathogens in mulberry. This fungicide has a inhibitory effect to *R. necatrix* at very low concentrations and, at 240 g/m of furrow application in old mulberry fields infested with the pathogen, it gives effective control of the disease (Hiroyuki and Itoi, 1971). It has a long-term effect due to its slow fumigant, low acting action and even its decomposition product, pentachloroaniline (PCA), shows an inhibitory effect on the fungus. Siddaramaiah and Patil (1984) have suggested to control the wilt disease of sprouted mulberry cuttings infected by *Sclerotium rolfsii* by drenching 0.2% solution of PCNB into the soil.

Some additional soil disinfectants are mainly used for the control of nematode disease of mulberry. Toida *et al.* (1968) observed that 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) and an organic phosphorus nematicide, 'Bayor 5121', fairly controlled nematode disease when applied @ 20-40 kg/10 ares at a depth of 10 cm. Sengupta *et al.* (1990) suggested to apply Aldicarb or Carbofuran @ 30 kg/ha/year in four equal split doses to get effective control of the disease. The amount of Aldicarb can be reduced further to 12 kg/ha/year, when applied with 4 tonnes of neem oil cake per hectare per year (Sikdar *et al.*, 1983, 1986).

Sources of primary inoculum other than soils may also be treated to eradicate mulberry pathogens. In an investigation in Japan, it was found that the cleistothecia of *P. corylea* overwintering on dormant mulberry shoots in the field were completely eradicated with a single application of the hydrolyzed product of PCNB, pentachlorophenol (PCP), (100 ×) during winter. Consequently, complete control of the first outbreak of powdery mildew in spring was found in the spread mulberry fields (Itoi *et al.*, 1964).

(iii) Foliage sprays or dusts:

(a) Fungicides:

Spraying or dusting of fungicides on the diseased mulberry plant is a familiar control measure and has received much attention during recent years (Sastry, 1984; Shree and Santakumari, 1986; Jolly, 1987; Anonymous, 1988b; Sengupta *et al.*, 1990; Biswas, 1992). Evidence from different sources indicates that a large number of fungicides of various chemical natures are effective against most of the diseases of mulberry. For example, dusting of fine sulphur (2-6 kg/ha) or spraying a sulphur suspension on the back of the mulberry plant once after sprouting and twice after 15 days' interval

has been suggested to be effective against powdery mildew disease caused by *P. corylea* (Rangaswami *et al.*, 1976; Anonymous, 1988b). Rhind (1924) has observed that the powdery mildew fungus is fairly controlled with lime sulphur. Moreover, false rust disease, caused by *S. mori*, is well controlled by the fungicide (Stewart, 1948; Hutton, 1961).

In addition to the effects of inorganic sulphur fungicides, the organic compounds of sulphur, such as derivatives of dithiocarbamic acid, are a very important group of fungicides in controlling mulberry diseases. Zineb, Ziram and Polycarbacin have been found to reduce the brown spot disease (Ibragimov and Askerova, 1964; Chanturiya, 1967). It is evident that 0.4% Zineb reduces about 85% of brown spot disease incidence in mulberry. Moreover, Zineb and Polycarbacin are reported to show high activities against the causal fungus (*F. lateritium* f. sp. *mori*) of mulberry shoot blight/twig blight *in vitro*, suggesting their efficacy in foliar spraying (Gvinepadze, 1978; Gvinepadze and Gvadzava, 1978). The fungicide, Mancozeb, which is the name coined for zinc ion and manganese ethylene bis dithiocarbamic acid, at 0.25% concentration gives maximum inhibition of leaf spot disease incited by *F. solani* (Choudhary and Raj, 1986). It also shows high activity against the pathogen (*P. mori* = *P. syringae* pv *mori*) of bacterial blight disease at 0.2-0.25% concentrations (Gvinepadze *et al.*, 1978; Docca *et al.*, 1987; Sharma and Govindaiah, 1991).

Application of copper fungicide such as Bordeaux mixture, prepared by the reaction of copper sulphate and calcium hydroxide in water, has been found to be effective to control powdery mildew and brown spot diseases at 0.1% and to prevent false rust (*S. mori*) disease, when spraying 1% solutions twice a year (Stewart, 1948; Wilfo, 1959; Hutton, 1961; Yokoyama, 1962; Askerova, 1963). Furthermore, the fixed copper compound, Copper Oxychloride, which acts like Bordeaux mixture, shows high activity against the brown spot disease at 0.25% concentration (Chanturiya, 1967).

The heterocyclic nitrogenous compound, Captan, is very effective at 0.4% to control the leaf spot disease caused by *Phloeospora maculans* (Munshi *et al.*, 1987). This fungicide may also be effective to control both brown spot and twig blight diseases (Ibragimov and Askerova, 1964; Gvinepadze, 1978; Gvinepadze and Gvadzava, 1978). It is evident that this fungicide controls about 84-85% of *Cylindrosporium* infections. Moreover, Sharma and Govindaiah (1992) have reported its antibacterial activity against *P. mori*.

Some additional fungicides have been shown to control mulberry diseases. Chanturiya (1967) has observed that 0.15% Melprex (N-dodecylguanidine) is effective against the brown spot disease caused by *C. maculans* (= *C. mori*?). Dinocarp (2,4-dinitro-6-octylphenyl cronate and 2,6-dinitro-4-octylphenyl cronate) at 0.1-0.2% concentration and Chinomethionat (6-methyl-quinoxaline-2,3-dithiocyclic carbonate) at 0.05%, when sprayed 2-3 times, give effective control of the powdery mildew disease (Iyenger, 1975; Siddaramaiah *et al.*, 1978; Sengupta *et al.*, 1990).

As regards the effect of systemic fungicides, the available evidence indicates that Carbendazim (methyl-2-benzimidazole carbonate) is the best for mulberry disease control. The fungicide at 0.05% concentration, when sprayed 2-3 times at an interval of 15 days, reduces both leaf spot (*C. moricola*) and powdery mildew (*P. corylea*) diseases (Siddaramaiah *et al.*, 1978c; Sikdar and Sheno, 1980; Sikdar, 1987; Ahsan *et al.*, 1990). Biswas *et al.* (1993) observed 75% control of mildew by spraying 0.15% Carbendazim once after the appearance of the disease in the field. This fungicide also gives effective controls of leaf spot (*F. solani*) and stem canker (*Botryodiplodia theobromae*) in mulberry (Shree, 1984; Choudhary and Raj, 1986). Several additional systemic fungicides have been found to show effectiveness against some of the foliar diseases of mulberry. Wang (1980) has reported Oxycarboxin and Triforine as effective fungicides for rust (*Aecidium mori*). Benomyl is found to be effective against leaf spot (*C. moricola*), shoot blight (*F. lateritium*) and bacterial blight (*P. mori*) diseases in mulberry (Gvinepadze, 1978; Gvinepadze and Gvadzava, 1978; Gvinepadze *et al.*, 1978; Sikdar and Sheno, 1980).

Although, in the foregoing paragraphs, several fungicides have been shown to be effective against various mulberry diseases, all of them are not suitable for mulberry disease control since some retain residual toxicity for longer periods. It is evident that leaves sprayed with Bordeaux mixture, sulphur dust and lime sulphur retain residual toxicity even after 15 days of spraying and affect the silkworms' health (Ramakrishnan and Sudan, 1954; Anonymous, 1972a; Jeyarajan, 1986), although those sprayed with sulphur dust would be ready for silkworm feeding 15 days after the last application, following

proper washing in water or wiping with a wet cloth (Anonymous, 1972a; Anonymous, 1988b). However, in the case of Dinocarp, which is found highly toxic to silkworms just after spraying, the period of toxic action is very short. The toxicity greatly reduces within 5 days and retains up to 10 days only (Siddaramaiah *et al.*, 1978c). Some fungicides, i.e., Carbendazim and Chinomethionat, have no residual toxicity even after one day of application (Iyenger, 1975; Siddaramaiah *et al.*, 1978b).

(b) Antibiotics:

Like fungicides, antibiotics are sometimes sprayed for the control of mulberry diseases caused by fungi, bacteria and MLO. However, these compounds are mainly used against bacterial diseases, especially for the control of a widespread and serious bacterial disease, i.e., bacterial blight, caused by *P. syringae* pv *mori* (Ye *et al.*, 1977). It is evident that the spraying of a systemic antibiotic, phytoalexin, in 0.05% solution containing 1% glycerin is very much effective against the disease in mulberry trees (Chanturiya and Labakhue, 1963). Moreover, the compound in this concentration has a stimulating effect on both seed germination and plant growth. Several additional antibiotics, such as streptomycin sulphate, streptopenicillin and streptocycline, also have been identified for the disease in laboratory tests and it seems that they may be effective in the field at low concentrations (Krishna Prasad and Siddaramaiah, 1978). As regards the control of fungal diseases, Chanturiya and Gvinepadze (1972) have observed that the antifungal antibiotics, trichothecin (0.02% concentration) and polymycin (0.05%) are highly, and polyoxin and plastocidin are moderately, effective against brown spot disease of mulberry. In addition, the antibiotics are reported to control fusariosis of mulberry seedlings (Gvinepadze and Kadzhaya, 1977).

The dwarf disease (caused by MLO) of mulberry seedlings, which is considered as the only source of primary infection in the nursery (Miyashita and Yamada, 1982), may be controlled by dipping roots and stumps, especially the collar region of the seedlings (Ye and Gu, 1989) in 100 ppm solution of chlortetracycline hydrochloride (aureomycin) and tetracycline hydrochloride (acromycin) of the tetracycline group of antibiotics (Ishii, 1967). However, foliar spray of these compounds may not be useful in decreasing dwarf disease of mulberry plants since, in the investigation of Ishii *et al.* (1971), it was found that spraying of tetracycline hydrochloride (100 ppm) 15 times at an interval of 2-3 days after summer pruning was not much effective.

(c) Insecticides:

Spraying of insecticides is mainly practiced for the control of pest attacks and the diseases in which pests act as vectors. A large body of evidence indicates that various groups of insecticides are effective against different pests of mulberry but, in the present treatise, only those that are found to be effective against nematode (discussed in the preceding text), dwarf and tukra diseases are considered.

It is evident that the dwarf disease of mulberry caused by MLO is well controlled by killing the rhombic-marked leaf-hopper, *H. sellatus*, with some organophosphorous (Malathion, Sumithion, Dursban) and pyrethroid (Ripcord) insecticides (Tahama, 1968; Anonymous, 1972b; Yiem *et al.*, 1988). However, amongst them, Malathion is the best, being most effective in wide usage and least toxic (Reddy, 1968). The insecticide, at 0.2% concentration when sprayed from a helicopter (Tahama, 1968) or at 0.1% when sprayed from the ground (Anonymous, 1972b), may be applied at the time of the 3rd leaf emergence after the dormant stage of mulberry in temperate regions where the disease is prevalent. Moreover, Malathion is known to control the most serious disease, i.e., Tukra, in West Bengal (Anonymous, 1988b). Spraying of two other insecticides, such as the less toxic systemic insecticides, Methyl demeton (0.2%) and Parathion (0.01-0.02%), keeping 13 days' gap (better to keep 16 days' gap according to Samsijah, 1989) between spraying and feeding have also been suggested to control the disease (Ghosh, 1970; Jolly, 1987; Sengupta *et al.*, 1990).

CONCLUDING REMARKS

The evidence presented in the foregoing text indicates that much progress is being made in the fundamental areas of research appropriate to integrated management systems in mulberry. The existent body of information on various disease control tactics offers a reasonable conceptual framework for implementing this system of research in mulberry, although the basic knowledge on

the interactions between plant, pathogen, climate and natural enemies is still in its infancy. Virtually, nothing is known about the disease forecasting and monitoring systems which offer considerable scope for improving disease control decision making to ensure chemical control measures in preventing economic damage at the correct time for maximum effectiveness. Further, researches on solarization mulching with thick transparent polyethylene sheets and plantation of trap plants/crops for controlling soil-borne pathogens may provide more information applicable to integrated management systems.

REFERENCES

- AHSAN M.M., DHAR A., DHAR K.L., FOTADER R.K. (1990) Package of practices for mulberry cultivation under temperate conditions. *Indian Silk*, 29, 7-12.
- AKHTAR M.A., SARWAR M. (1988) Mulberry germplasm resistance to bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv *mori*) in Pakistan. *Plant Protection Bulletin*, 36, 43-45.
- ANONYMOUS (1938) Annual Report. Botany and Plant Pathology Section, LA Agric. Exp. Sta., 10 Wa, 103-121.
- ANONYMOUS (1972a) Annual Administrative and Scientific Report. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore.
- ANONYMOUS (1972b) Handbook of Silkworm Rearing. Fuji Publication Co., Japan, 319 pp.
- ANONYMOUS (1988a) Buriram-60 Research Monitor. Department of Agriculture, Thailand, 2, 5-10.
- ANONYMOUS (1988b) Quarterly News Bulletin. Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, 11 pp. (Annexure 1).
- ANONYMOUS (1989-90) Annual Administrative Report. Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, 232 pp.
- ANONYMOUS (1990) News and Views. Quarterly Bulletin of Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, 5, 14.
- AKOI J. (1959) Appearance of perithecia in *Phyllactinia corylea* (Pers) Karst on fallen leaves on the hibernating mulberry. *J. Sericult. Sci. Japan*, 28, 98-101.
- AKOI J., MATSUNO S. (1959) Studies on the root rot of the mulberry trees caused by *Helicobasidium mompa* Tanaka and *Rosellinia necatrix* Hartig Berlese. *J. Sericult. Sci. Japan*, 28, 120-129.
- ASKEROVA T.Z. (1963) Brown spot of mulberry in Azerbaidzhan. *Shelk*, 1, 31-33.
- BHATTACHARYA S.S., CHAKRABORTY N., KUMAR C.A., SAHAKUNDU A.K. (1994) Control of white powdery mildew, *Phyllactinia corylea* (Pers) Karst with the ladybird beetle, *Illeis indica* Timb. (Coccinellidae: Coleoptera). *Sericologia*, 34(3), 485-491.
- BERDZENIDZE V.G. (1973) Resistance to leaf curl and yield of new mulberry varieties. *Shelk*, 2, 6.
- BHINAI H. (1987) Study on the mulberry resistance to the root rot disease. *Sericologia*, 27, 189-191.
- BISWAS S. (1991) Mulberry phytoalexins and their use in disease control. *Indian Silk*, 30, 31-32.
- BISWAS S. (1992) Fungicides for mulberry disease control — An appraisal. *Indian Silk*, 34, 26-28, 44.
- BISWAS S., MANDAL S.K., CHINYA P.K. (1993) Development of powdery mildew disease in mulberry and its control. *Sericologia*, 33(4), 653-662.
- BISWAS S., MANDAL S.K., TEOTIA R.S., NAIR B.P., SENGUPTA K. (1992a) Intensity of mulberry powdery mildew in West Bengal with some measures to control. National Conference on Mulberry Sericulture Research, December 10 & 11, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore (Abs.).
- BISWAS S., RAO A.A., MANDAL S.K., ROY B.N. (1992b) Influence of diurnal variations and climatic condition on conidial dispersal of *Phyllactinia corylea*. *Indian J. Seric.*, 31, 135-139.
- BISWAS S., SENGUPTA K. (1993) Phytoalexins and their role in disease control with special reference to mulberry. *Sericologia*, 33(2), 353-357.
- BISWAS S., SENGUPTA K. (1994) Genetic control of disease resistance in mulberry. *Sericologia*, 34(1), 33-42.

- BISWAS S., TEOTIA R.S., MANDAL S.K. (1992c) Some field observations on the severity of powdery mildew (*Phyllactinia corylea*) in mulberry. *Indian J. Seric.*, 31, 67-69.
- BORAIAH G., SHREE M.P., NARAYANAGOWDA S.N. (1987) Screening of mulberry. *Sericologia*, 27, 165-167.
- BOSE P.C. (1989) Natural resistance of mulberry plants to diseases: role of phytoalexins. Workshop on Host Plant Breeding and Genetics. 28-30 June, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, Annexure 1, p. 8 (Abs.).
- BURKE J.M., STEVENSON R. (1985) Natural benzofuran synthesis of Moracin A and B. *J. Chem. Res. Symp.*, 2, 34.
- CHANTURIYA N.N. (1967) Some new fungicides for the control of brown spot in mulberry tree leaves. *Soobshch Akad. Nauk. Gruz. SSR*, 48, 673-678.
- CHANTURIYA N.N., GVINEPADZE M.Sh. (1972) Tests of antibiotics against mulberry leaf spot disease. *Mikol. Fitopatol.*, 6, 533-535.
- CHANTURIYA N.N., LABAKHUE L.V. (1963) Using antibiotics to control bacterial infection in mulberry. *Soobshch Akad. Nauk. Gruz. SSR*, 32, 141-148.
- CHOUDHARY S.K., RAJ S.R. (1986) *Fusarium solani* (Mart) Sacc, a new pathogen causing leaf spot disease in mulberry and its control. *Sericologia*, 26, 125-130.
- CSAICIU E. (1971) Valuable mulberry varieties recommended for intensive cultivation. *Sericultura*, 7, 15-21.
- DARVIL A.G., ALBERSHEIM P. (1984) Phytoalexins and their elicitors, a defence against microbial infection in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 35, 243-275.
- DAYAKAR YADAV B.R., KASTURIBAI A.R. (1988) Cultural control of the collar-rot disease of mulberry (*Morus alba* L.). *Sericologia*, 28, 261-268.
- DICKENSON C.H., LUCAS J.A. (1977) *Plant Pathology and Plant Pathogens*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 161 pp.
- DOCEA E., FRATILA E., GRUMEZA C., VEVEA L., LOGOFETICI I., RUSU V., CIMPOESCU S. (1987) Observations on the main diseases of mulberry trees at SCPCS., Baneasa-Bucharest (Romania). *LUCR Stint Inst. Agron. Nicolae Balcescu Zootech.*, 30, 19-29.
- DZHAFAROV N.A., TURCHANINOVA L.A., ALEKPEROVA O.R. (1977) The new mulberry variety Arzu. *Shelk*, 2, 4.
- FREEMAN S., SZETEJNBERG A., CHET I. (1986) Evaluation of *Trichoderma* as a biocontrol agent of *Rosellinia necatrix*. *Plant Soil*, 94, 163-170.
- FREEMAN S., SZETEJNBERG A., SHABIE., KATAN J. (1990) Long-term effect of soil solarization for the control of *Rosellinia necatrix* in apple. *Crop Prot.*, 9, 312-316.
- FUJITA H. (1974) Induction of dieback disease resistant bud mutations by gamma irradiation in mulberry. *Mutation Breeding Newsletter*, Institute Radiation Breeding, Ohmiya, NIAS, MAFF, Japan, 4, 6.
- FUJITA H., WADA M. (1980) Studies on mutation breeding in mulberry (*Morus* spp.). *In* Induced mutations in vegetatively propagated plants II. Coimbatore, February, 11-15.
- GHOSH S.K. (1970) Chemical of the mealy bug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Pseudococcidae, Hemiptera). *Plant Prot. Bull.*, 22, 17-21.
- GOVINDAIAH, DANDIN S.B., MADHAVA RAO Y.R. (1989a) Host range *Meloidogyne incognita* causing root-knot disease in mulberry (*Morus alba* L.) *Indian J. Seric.*, 28, 121-126.
- GOVINDAIAH, PHILIP T., SENGUPTA K., GIRIDHAR K., SURYANARAYANA N. (1990a) Incidence of leaf spot disease in some indigenous varieties of mulberry. *Sericologia*, 30, 257-260.
- GOVINDAIAH, SHARMA D.D., CHOWDHARY P.C., MALLIKARJUNA B., MADHAVA RAO Y.R. (1990b) Incidence of fungal diseases of mulberry under different agronomic practices. *Sericologia*, 30, 237-242.
- GOVINDAIAH, SHARMA D.D., SENGUPTA K., GUNASEKHAR V., SURYANARAYANA N., MADHAVARAO Y.R. (1989b) Screening of mulberry varieties against major fungal diseases. *Indian J. Seric.*, 28, 207-213.
- GOVINDAIAH, SURYANARAYANA N., SHARMA D.D., GARGI (1990c) Effect of mulching of green leaves for the control of root knot nematode in mulberry. *Indian J. Nematol.*, 19, 25-28.

- GVINEPADZE M.Sh. (1978) The character of action of some fungicides on the sporulation of the fungus, *Fusarium lateritium* Nees, causal agent of mulberry shoot wilt. Soobshch Akad. Nauk. Gruz. SSR, 92, 201-204.
- GVINEPADZE M.Sh., GVADZHAVA N.A. (1978) Study of the action of some fungicides against the causative agent of mulberry tree shoot blight. Soobshch Akad. Nauk., Gruz. SSR, 91, 721-724.
- GVINEPADZE M.Sh., KADZHAYA V. (1977) Effectiveness of antibiotics against fusariosis of mulberry seedling. Rev. Plant Pathol., 56, 36-38.
- GVINEPADZE M.Sh., KHURTSIYA B.N., SHUTASISHVILI N.A., TUKHARELI A.R. (1978) Comparative toxicity of new fungicides with respect to causal agent of bacteriosis of mulberry *Pseudomonas mori* (Boyer et Lambert) Stevens. Soobshch Akad. Nauk. Gruz. SSR, 92, 713-716.
- HAZAMA K. (1968) Breeding of mulberry tree. JARQ, 2, 15-19.
- HIDA N., MURAKAMI M., YAMAMOTO M., MINAMI M. (1978) New mulberry cultivar, 'Minamisakari'. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 27, 469-506.
- HIDA N., YAMAMOTO M., IWATA E., MURAKAMI M. (1982) A new mulberry *Morus alba* cultivar, 'Hayate-Sakari'. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 20, 613-665.
- HIROYUKI I.E., ITOI T. (1971) Control of the white root rot disease of mulberry trees with penta-chloro-nitro-benzene (PCNB). J. Sericult. Sci. Japan, 40, 134.
- HUTTON K.E. (1961) Two common diseases of mulberries. Agri. Gaz. N.S. Wales, 72, 44-46.
- IBRAGIMOV G.R., ASKEROVA T.Z. (1964) New compounds for the control of *Cylindrosporium* infections and root rot of mulberry in nurseries. Shelk, 3, 13-15.
- ISHIIE T., KYOSHIYORA Y., ASUYAMA H. (1967) Suppressive effects of antibiotics of tetracycline group on symptom development of mulberry dwarf disease. Ann. Phytopathol. Soc. Japan, 33, 267-275.
- ISHIIE T., YAMAKAWA Y., MIZUTANI M. (1971) On the application of antibiotics of tetracycline group to mulberry trees attacked with mulberry dwarf disease. J. Sericult. Sci. Japan, 40, 395-398.
- ISHIJAMA T. (1968) Studies on the transmission of the mulberry dwarf disease by insects and its control. (1) Some epidemical observations on the relationship between the infection with a possible pathogen and the occurrence of the disease in mulberry field. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 23, 81-101.
- ITOI K. (1941) Studies on *Murasaki mompa* disease by *Helicobasidium mompa* Tanaka. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 43.
- ITOI S., NAKAYAMA K., KUBOMURA Y. (1960) Studies on the powdery mildew of mulberry tree, caused by *Phyllactinia corylea* (Pers) Karst. (II) On the germination and vitality of conidia. J. Sericult. Sci. Japan, 29, 79-84.
- ITOI S., NAKAYAMA K., KUBOMURA Y. (1964) The spread of mulberry powdery mildew and the control of the first outbreak in spring by eradicating perithecia. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 28, 545-558.
- IYENGER M.N.S. (1975) Effect of feeding mulberry leaves sprayed with morestan on the survival and growth of silkworm, *Bombyx mori*. Indian J. Seric., 14, 1-15.
- JANARTHANAN, DHAIRA BEEVI N. (1990) Mulberry diseases on the rampage, Hindu, Madras. Indian Silk, 28, 44-45.
- JEYARAJAN R. (1986) Diseases of mulberry and their control. National Seminar on Prospects and Problems of Sericulture in India, March 27-30, 37.
- JOLLY M.S. (1987) Appropriate Sericulture Techniques. International Centre for Training and Research in Tropical Sericulture, Mysore, 176 pp.
- KATAGIRI K., WADA M., FUJITA H., NAKAJIMA K., HAZAMA K. (1976) Induction of dicback resistant mutation in mulberry. Gamma Field Symp., 17, 75-84.
- KAWAKITA H., ISHIE T. (1976) On the interaction of weed, *Humulus japonicus*, with mulberry dwarf disease. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 20, 448.
- KOZIKOVA R.K. (1979) Experimental mutagenesis in mulberry breeding. In Materialy 2-go Vses. Seminara Soveshch PO Genet i Selktsii Shelkopyrada i Shelkovitsy, Sent, 25-27.
- KRISHNA PRASAD K.S., SIDDARAMAIAH A.L. (1978) Studies on the bacterial leaf blight of mulberry in Karnataka. Indian J. Seric., 17, 61-63.

- KUBOMURA Y., LEKI H., ITOI S. (1970) Soil disinfection with chloropicrin against white root rot fungus, *Rosellinia necatrix* (Hart) Berlese in different soils. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 24, 287-302.
- KUBOMURA Y., NAKAYAMA K. (1975) On the overwintering of the causal pathogen of a bacterial blight of mulberry, *P. mori* (Boyer et Lambert) Stv., in dead leaves of the mulberry. J. Sericult. Sci. Japan, 44, 287-293.
- KUSHIBUCHI K. (1976) Introducing new varieties of summer crops. Japanese J. Breeding, 26, 266-277.
- KVACHADZER V., KAKULIYA M.A. (1985) Identifying mulberry forms resistant to dwarf disease selected on the basis of leaf polymorphism. Shelk, 5, 4-5.
- LEKI H. (1972) Effects of various factors on the inoculation of mulberry saplings with *Murasaki mompa* disease fungus, *Helicobasidium mompa* Tanaka. J. Sericult. Sci. Japan, 41, 124-130.
- LEU L.S., LEE C.C. (1982) Morphology and conidial germination of powdery mildew of mulberry. Plant Prot. Bull., 24, 27-36.
- MARSHALL T.J., HOLMES J.W. (1979) Soil Physics. Cambridge University Press, London, 345 pp.
- MATSUNO M., DOI N., NISHIMA S. (1987) Some epidemiological observations of mulberry dieback caused by *Diaporthe nomurai* Hara with the artificial infection. J. Sericult. Sci. Japan, 56, 1-8.
- MATSUYAMA S., KUWAHARA Y., NAKAMURA S., SUZUKI T. (1991) Oviposition stimulants for the lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker, in mulberry leaves; rediscovery of phytoalexin components as insect kairomones. Agric. Biol. Chem., 55, 1333-1342.
- MATUO T., SAKURAI Y. (1959) On the fungicidal effect of chloropicrin and other new drugs on *Rosellinia necatrix* and *Corticium centrefigus* in the soil and mulberry. J. Sericult. Sci. Japan, 28, 395-401.
- MIYASHITA Y., YAMADA K. (1982) The transmission of prevalence and agronomic control in mulberry dwarf disease. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 28-741-770.
- MULOV G.B., KOZIKOVA R.K. (1972) The new mulberry variety Ukranine 510. Shovkivnitsvo Resp. Mizhvid. Temat. Nauk. Zh., 9, 11-14.
- MUNSHI N.A., TANKI T.N., ZARGAR M.A., DAS B.C. (1987) Field evaluation of fungicides against leaf spot disease of mulberry in Kashmir. Indian J. Seric., 26, 86-89.
- NAKAJIMA K. (1972) Induction of useful mutations in mulberry by gamma radiation. JARQ, 6, 195-198.
- NAKAJIMA K. (1973) Induction of useful mutations of mulberry and roses by gamma rays. In Induced mutations in vegetatively propagated plants, IAEA, Austria, 105-106.
- NIKURADZE V.G. (1982) Choice of parental pairs for reproduction of mulberry seeds. In Materially 4-go S^o ezda Gruz. O-va Genetikov Seleksioncrov, Tbilisi, Noyab, 18-20.
- PASHA M.K., BARMAN A.C. (1988) Selection of mulberry (*Morus alba* L.) variety resistant to leaf spot disease. Bangladesh J. Agric., 13, 103-108.
- PASHA M.K., BARMAN A.C. (1990) Survey on the incidence of powdery mildew disease of mulberry by *Phyllactinia corylea*. Bull. Sericult. Res. Bangladesh, 1, 30-34.
- PATHAN I.H. (1987) Research and Survey Reports. Pakistan Quarterly Newsletter, Asia and Pacific Plant Protection Commission, FAO, Thailand, 30, 33-34.
- PHILLIP W.-D. (1985) Extracellular enzymes and nutritional physiology of *Ampelomyces quisqualis* hyperparasite of powdery mildew *in vitro*. Phytopathol. Z., 114, 274-283.
- PILLAI S.V., JOLLY M.S. (1985) An evaluation on the quality of mulberry varieties raised under hill conditions and the crop results of *Bombyx mori* L. Indian J. Seric., 24, 48-52.
- RAMAKRISHNAN T.S., SUDAN N.V. (1954) *Phyllactinia corylea* in India. Indian Phytopath., 7, 61-68.
- RANGASWAMI G., NARASIMHANNA M.N., KASIVISWANATHAN K., SASTRY C.R. (1976) Sericulture Manual. 1: Mulberry Cultivation. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 150 pp.
- RAO S.S., SULLIA S.B. (1981) A hyperparasite of *Phyllactinia corylea*, the powdery mildew of mulberry. Curr. Sci., 50, 769.

- REDDY D.B. (1968) Plant Protection in India. Allied Publishers, Bombay, 454 pp.
- REDDY D.N.R., KOTIKAL Y.K., RAYUDU B.V.S. (1989) Development of *Illeis cincta* on mulberry powdery mildew, *Phyllactinia corylea*, infesting *Morus alba*. Sci. Cult., 55, 111-112.
- RHIND (1924) Report of the mycologist Burma for the period ending June 30th 1924. Rangoon Superintendent Govt. Printing and Stationery, Burma, 6 pp.
- SAITO H., MATUO T. (1977) Liberation and dispersal condition of conidia of causal fusaria of fusarium blight in rainy days in field. J. Sericult. Sci. Japan, 46, 318-324.
- SAITO H., YAMADA N., NAICHINISHI H., MATUO T. (1978) Clamydospore formation of *Fusarium lateritium* f sp *mori* and *F. solani* f sp *mori* in soil extract and detection of both fungi and other fusaria from the soil of fusarium blight occurring mulberry fields. J. Sericult. Sci. Japan, 47, 193-200.
- SAMSIJAH (1989) Effects of residues of insecticides on silkworm forage (*Morus* sp.) to silkworm survival, cocoon and filament quality, egg quality and fecundity of *Bombyx mori* L. Bull. Penelitian Hutan, 0(510), 33-34.
- SASTRY C.R. (1984) Mulberry varieties, exploitation and pathology. Sericologia, 24, 333-359.
- SATO M., TAKAHASHI K. (1973) Ecological studies on the bacterial blight of mulberry. (3) Some factors concerning the survival of *Pseudomonas mori* (Boyer et Lambert) Stevens in soil. J. Sericult. Sci. Japan, 42, 213-218.
- SAVASTANO L. (1923) On the Italian epidemics of blight in *Citrus*, apricot, fig, walnut, etc. Ann. R. Staz. Sperim. Di. Agumbic e Frutti Aceriale, 7, 89-176.
- SENGUPTA K., KUMAR P., BAIG M., GOVINDAIAH (1990) Handbook on pest and disease control of mulberry and silkworm. United Nations Economic and Social Commission for Asia and the Pacific, Bangkok, 88 pp.
- SHABLOVSKAYA M.I. (1981) Breeding mulberry for resistance to dwarf disease. In Materially 4-go S"ezda Gruz. O-va. Genetikov i Seleksionerov, Tbilisi, Noyab, 18-20.
- SHABLOVSKAYA M.I., BERDZNIDZE V.G., KHARSHILADZE Z.V., OZIASHOILI O.V., NIKURADZE V.G. (1979) Prospects for the use of polyploidy in the production of mulberry varieties resistant to dwarf disease. Tr. Gruz. S-Kh. in-ta, 111, 25-32.
- SHABLOVSKAYA M.I., NIKURADZE V.G., BERDZENIDZE V.G., KHARSHILADZE Z.V. (1980) New mulberry varieties and hybrids tolerant of dwarf disease. Tr. Gruz. S-Kh. in-ta, 116, 11-12.
- SHABLOVSKAYA M.I., NIKURADZE V.G., KHARSHILADZE Z.V. (1977) Breeding mulberry for resistance to dwarf disease. In Tr. Vses. Seminara Po Genet i Seleksii Tutova Shelkopyrada i Shelkovitsy, Tashkent, 137-142.
- SHARMA D.D., GOVINDAIAH (1991) Comparative *in vitro* toxicity of fungicides against *Pseudomonas mori* (Boyer and Lambert) Stevens causing bacterial blight of mulberry. Indian J. Seric., 30, 139-140.
- SHIRATA A., ITOI S., TAKAHASHI K., ISHIE T. (1979) Effect of temperature on fungal growth and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from mulberry twig blight and tolerance of the isolates to the antifungal substances originated from mulberry shoot. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 27, 807-830.
- SHIRATA A., TAKAHASHI K. (1982) Detection and production of antimicrobial substances in leaves of mulberry and other moraceae tree plants. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 28, 707-718.
- SHIRATA A., TAKAHASHI K., TAKASUGI M., NAGAO S., ICHIKAWA S.-I., UENO S., MUNOZ L., MASAMUNE T. (1982) Antimicrobial spectra of the compounds from mulberry (*Morus alba*). Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 28, 793-806.
- SHIRATA A., TAKAHASHI K., TAKASUGI M., NAGAO S., MASAMUNE T. (1978) Antifungal and antibacterial activities of phytoalexins Moracin A and B isolated from mulberry. Bull. Sericult. Exp. Sta., Tokyo, 27, 647-659.
- SHREE M.P. (1984) Control of mulberry stem canker disease caused by *Botryodiplodia theobromae* Pat. Sericologia, 24, 325-331.
- SHREE M.P., SANTAKUMARI M. (1986) Mulberry diseases and their control. In Lectures on Sericulture. Ed. G. Boraiah, Surmya Publishers, Bangalore, pp. 11-15.
- SIDDARAMAIAH A.L., KRISHNA PRASAD K.S., HEGDE R.K. (1978a) Epidemiological studies of mulberry leaf spot caused by *Cercospora moricola* Cooke. Indian J. Seric., 17, 44-47.

- SIDDARAMAIAH A.L., KRISHNA PRASAD K.S., PADAGANUR G.M. (1978b) Field evaluation of fungicides in the control of mulberry powdery mildew. *Indian J. Seric.*, 17, 37-41.
- SIDDARAMAIAH A.L., PADAGANUR G.M., KRISHNA PRASAD K.S., GOVINDAN R. (1978c) Control of mulberry leaf spot caused by *Cercospora moricola* Cooke. *Indian J. Seric.*, 17, 23-27.
- SIDDARAMAIAH A.L., PATIL R.R. (1984) New wilt disease of sprouted mulberry in the nursery from India. *Indian J. Seric.*, 23, 46.
- SIKDAR A.K. (1987) Leaf spot disease of mulberry and its control with systemic fungicide. *Indian Silk*, 25, 34-36.
- SIKDAR A.K., GOVINDAIAH, MADHAVA RAO Y.R., JOLLY M.S., GIRIDHAR K. (1983) Control of root-knot nematode disease (*M. incognita*) in mulberry by Aldicarb and oil cakes. National Seminar on Silk Research and Development, Bangalore, March 10-13.
- SIKDAR A.K., GOVINDAIAH, MADHAVA RAO Y.R., JOLLY M.S., GIRIDHAR K. (1986) Control of root-knot nematode disease of mulberry by Temik 10G and oil cakes. *Indian J. Seric.*, 25, 33-35.
- SIKDAR A.K., SHENOI M.M. (1980) Control of leaf spot disease of mulberry by systemic fungicides. *Indian Phytopath.*, 33, 38-41.
- SRISOMCHAI T., BROWN M.W. (1971) Mulberry mosaic — An initial report for Thailand. *Thai J. Agric. Sci.*, 4, 63-70.
- SRIVASTAVA S.L., BIST S. (1983) Studies on biological control of *Erysiphe polygoni* on pea. *Geobios*, 10, 117-119.
- STEWART R.E. (1948) Investigations on the leaf spot disease of black mulberries caused by *Spetogloeum mori* (Briosi et Cavara). *J. Royal Soc. Australia*, 34, 87-104.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1981) Splash dispersal in *Cercospora moricola*. *Sci. Cult.*, 47, 173-175.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1986) Antagonistic effects of phylloplane microorganisms against *Cercospora moricola* Cooke. *Curr. Sci.*, 55, 1208-1209.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1989) Epidemiology of *Cercospora* leaf spot disease of mulberry. III. Conidial dispersal and disease incidence. *Sericologia*, 29, 533-539.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A. (1990) Epidemiology of *Cercospora* leaf spot disease of mulberry. IV. Process of penetration. *Sericologia*, 30, 41-45.
- SZTEJNBERG A., GALPER S., MAZAR S., LISKER N. (1989) *Ampelomyces quisqualis* for biological control and integrated control of powdery mildews in Israel. *J. Phytopathol. (Berl.)*, 124, 285-295.
- TAHAMA Y. (1968) Studies on the dwarf disease of the mulberry tree. XVIII. An experiment on the protection of mulberry trees from the infection of the disease by means of spraying insecticides from a helicopter to kill the insect vector. *J. Sericult. Sci. Japan*, 37, 57-62.
- TAHAMA Y. (1978) Mulberry dwarf disease: 24. Disappearance of the symptoms under continuous illumination and absence of mycoplasma-like organisms in the recovered plants. *Bull. Hiroshima Agric. Coll.*, 6, 21-30.
- TAIT E.J. (1987) Planning an integrated pest management system. pp. 189-207. *In* Integrated Pest Management. Ed. Burn A.J., Cooker T.H. and Jepson P.C. Academic Press, New York, 474 pp.
- TAKAHASHI K. (1980) The causal pathogen of bacterial blight of mulberry and its control. *JARQ*, 14, 41-45.
- TAKASUGI M., NAGAO S., MASAMUNE T. (1982) Studies on phytoalexins of the Moraceae. (10) Structures of Dimoracin, a new natural Diels-Alder adduct from diseased mulberry. *Chemistry Letters*, 8, 1217-1220.
- TAKASUGI M., NAGAO S., MASAMUNE T., SHIRATA A., TAKAHASHI K. (1980) Studies on phytoalexins of the Moraceae. VII. Chalcomoracin, a natural Diels-Alder adduct from diseased mulberry. *Chemistry Letters*, 12, 1573-1576.
- TOIDA Y. (1978) Effects of the marigold on the control of nematodes in mulberry. 2. Nematicidal effect. *Acta Seric.*, 105, 129-133.
- TOIDA Y., HARASHIMA N., KIKUCHI M. (1968) On the control of nematodes by the application of nematicides in the mulberry fields. *Acta Seric.*, 68, 106-115.
- WALKER J.C. (1965) Disease resistance in vegetable crops III. *The Botanical Review*, 31, 331-380.

- WANG H.-C. (1980) Rust of mulberry (*Aecidium mori*). Natl. Sci. Counc. Mon., 8, 604-615.
- WILFO S. (1959) Control of the disease caused by fungus, *Septogloeum mori* (Briosi et Cavara), in white mulberry tree, *Morus alba*. Agrico. Polo., 11, 191-193.
- YAMADA K., MAKI O., MIYAMA K., WADA M., OKABE T. (1990) Breeding a new mulberry cultivar 'Yukimasari'. Bull. Hokuriku Ntl. Agricult. Exp. Sta., 0(32), 105-122.
- YE Y.-B., GU B.-L. (1989) Annual rhythm of shifting of symptoms and pathogenicity within an individual mulberry tree. Sericologia, 29, 107-113.
- YIE Y.K., KIM J.W., CHO Y.S. (1977) Studies on a rough colony type mutant of *Pseudomonas mori* (Boyer et Lambert) Stevens causing mulberry bacterial blight: pathogenicity and some characteristics. Korean J. Plant Protec., 16, 21-31.
- YIEM M.S., KIM Y.S., YN M.S., KIM M.S. (1988) Studies on the control and bionomic of rhombic marked leaf hopper (*Hishimonas sellatus* Uhler), a vector of jujube witches broom mycoplasma. Res. Rep. Rural Devel. Adm. (Suweon), 30, 71-77.
- YOKOYAMA T. (1962) Synthesised Science of Sericulture. Central Silk Board, Bombay.
- ZEDGINIDZE M.G. (1975) Effect of altitude on the resistance of some mulberry varieties to dwarf disease. Tr. Gruz. S-Kh. in-ta, 91, 77-81.

SYSTEME INTEGRE DE LUTTE CONTRE LES MALADIES CHEZ LE MURIER

S. BISWAS*, S.K. SEN & T. PAVAN KUMAR**

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, Inde.

INTRODUCTION

Le mûrier, qui est de nature pérenne, est sujet à un grand nombre de maladies provoquées par divers groupes d'agents pathogènes. Les maladies entraînent des pertes considérables de rendement foliaire aussi bien au plan quantitatif qu'au plan qualitatif (Rangaswami et coll., 1976). Dans de nombreux cas, les feuilles malades ou les feuilles des plants malades sont consommées par le ver à soie (*Bombyx mori* L.) sans traitement préalable. L'utilisation d'un système de lutte qui aboutit à une augmentation des dommages pathologiques chez les plants se traduit donc par de lourdes pertes financières. Le coût élevé des moyens de lutte chimique et les désastres engendrés par leurs effets nocifs sur les vers à soie tendent à diminuer leur utilisation. Du fait de ces contraintes économiques et techniques, il est certain que les pressions iront s'accroissant pour l'adoption des systèmes intégrés de lutte contre les maladies en moriculture.

Le concept des systèmes intégrés de lutte a été mis au point par les entomologistes à la fin des années 1950 à la suite des problèmes soulevés par l'utilisation des insecticides pour lutter contre les parasites. Deux de ces problèmes sont le développement de la résistance aux insecticides et une prise de conscience croissante de l'étendue des risques associés à leur utilisation. L'incidence de ces problèmes montre que les tentatives de lutttes contre un parasite utilisant une seule stratégie sont souvent vouées à l'échec dès le départ. En conséquence, des systèmes de lutte plus complets, intégrés, ont été mis au point. La lutte intégrée implique des systèmes qui prennent en considération l'interaction entre tous les types d'organismes ayant des effets bénéfiques, neutres, parasites ou pathogènes, le but à long terme étant d'accroître le degré d'éradication d'un parasite ou d'une maladie de manière naturelle (Dickenson et Lucas, 1977 ; Tait, 1987). Ceci implique, notamment, une stratégie de lutte combinant un ensemble de mesures de lutte culturales, biologiques et chimiques afin d'obtenir une élimination stable et durable du parasite ou de la maladie, ce qui permettra d'éviter les conséquences négatives bien connues de l'utilisation croissante des fongicides, des antibiotiques et des insecticides comme des produits chimiques toxiques.

A la suite de l'introduction des systèmes de lutte intégrés contre les parasites, le concept de cette approche dans le domaine de la recherche sur les parasites a éveillé l'intérêt et l'imagination des biologistes du monde entier. En revanche, les chercheurs en pathologie végétale microbienne ne se sont pas encore intéressés à ce concept de lutte contre les maladies. En effet, bien que des programmes aient été mis en place pour certaines maladies, cette approche n'est pas fréquemment abordée dans les traités de pathologie végétale. Cependant, il est généralement suggéré que l'éradication de la plupart des maladies des plantes passe par l'intégration de plusieurs protocoles, dont la manipulation de l'environnement. Pour ce qui concerne la pathologie du mûrier, les progrès réalisés dans la recherche fondamentale concernant les systèmes de lutte intégrés sont considérables. Le texte qui suit fait la synthèse des résultats des recherches sur les maladies des mûriers qui peuvent être utilisés dans

* Adresse actuelle : Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734 301, West Bengal, Inde.

** Adresse actuelle : Silkworm and Mulberry Germplasm, Hosur - 635 009, Tamil Nadu, Inde.

les systèmes de lutte intégrés et de leur évaluation afin de permettre la mise en oeuvre de ces systèmes chez le mûrier.

LA PROTECTION PAR LES METHODES CULTURALES

La lutte contre les maladies par les méthodes culturales comprend certains des moyens de lutte les plus anciens comme la culture spécifique et l'amendement qui favorisent une croissance vigoureuse des plantes et facilitent sa résistance aux maladies et la mise en place de systèmes sanitaires agricoles. La modification des pratiques culturales entraîne une altération de l'environnement, le rendant moins favorable à l'invasion par des vecteurs pathogènes et parasites, à leur survie et à leur dispersion, ce qui permet de réduire l'incidence des maladies. De plus, ces méthodes peuvent être étroitement associées avec les pratiques agricoles ordinaires et peuvent être faciles et peu coûteuses une fois incorporées dans les systèmes agronomiques après quelques modifications des pratiques conventionnelles. En effet, certaines de ces méthodes ont été si bien assimilées dans les pratiques culturales qu'elles ne sont plus reconnues comme des tactiques de lutte contre les maladies.

1) Sélection du site :

Le type de sol, le climat et l'altitude peuvent être déterminants pour la santé et la vigueur du mûrier et pour son utilisation comme hôte par les agents pathogènes. De plus, les caractéristiques physiques du sol comme la température, le contenu en eau et la texture ont un impact sur l'apparition et la survie des microorganismes dans le sol. L'environnement choisi pour une plantation de mûrier donnée peut donc jouer un rôle important dans la capacité de la plante à résister à une infestation par un agent pathogène. Par exemple, les sols composés de cendres volcaniques sont plus favorables au développement du pourrissement violet des racines provoqué par *Helicobasidium mompa* que les sols rocheux alluviaux et tertiaires (Leki, 1972), ce qui suggère qu'une variété résistante au pourrissement des racines est nécessaire pour les sols volcaniques. De même, il convient de veiller à cultiver les mûriers en fonction des incidences sous-jacentes. Le nanisme, causé par un organisme analogue au mycoplasme transmis par la cicadelle *Hishimonas sellatus* Uhler, est maximum en plaine ; par contre, cette maladie n'a pas été observée en zone montagneuse où ce vecteur est présent dans toutes les plantations et, lorsqu'elle apparaît, son incidence est très faible et sur un nombre très limité de plants (Ishijama, 1968 ; Zedginidze, 1975). La variété de mûrier MR-2 est résistante à l'oïdium en régions montagneuses (Pillai et Jolly, 1985) mais en plaine son degré de résistance est comparativement faible (Govindaiah et coll., 1989b). L'agent pathogène de la flétrissure bactérienne *Pseudomonas syringae* pv. *mori* (= *P. mori*) peut survivre longtemps dans les sols composés de particules de grande taille (Sato et Takahashi, 1973).

2) Densité de plantation :

Les travaux de Govindaiah et coll. (1990b) montrent clairement que l'intensité de la maladie de la tache (*Cercospora moricola*), de l'oïdium (*Phyllactinia corylea*) et de la rouille foliaire (*Cerotelium fici*) du mûrier est plus forte dans les plantations à espacements serrés (60 × 30 cm) que dans les plantations à espacements larges (120 × 75 cm). Néanmoins, cette information ne présente pour ainsi dire aucune valeur pratique dans la lutte contre les maladies du mûrier puisque le but premier de l'espacement des plants de mûrier est d'optimiser le rendement en feuilles par unité de surface sans affecter la qualité et le rendement en feuilles, considération prioritaire par rapport à l'effet de la densité de plantation sur l'incidence ou les dommages causés par les maladies.

3) Bêchage et solarisation :

Le but principal du bêchage des mûraies est d'ameublir le sol afin de permettre à l'eau de pluie de s'écouler dans le sol et d'assurer une meilleure aération et une meilleure nitrification (Rangaswami et coll., 1976). Cependant, d'un point de vue pathologique, le bêchage joue également un rôle significatif dans la lutte contre de nombreuses maladies du mûrier. Le bêchage répété du champ avant et après la plantation, notamment juste avant la taille des mûriers, facilite l'exposition du sol aux rayons solaires, ce qui peut contribuer à éradiquer de nombreux microorganismes pathogènes présents

dans le sol en augmentant la température du sol par exposition aux ondes courtes (en général moins de 2 µm), équivalentes à celles d'un radiateur à environ 6000 °K, émises par le soleil et par le ciel (Marshall et Holmes, 1979). Des travaux réalisés sur les pommiers indiquent également qu'il est possible d'éliminer le pourrissement blanc des racines provoqué par l'agent pathogène *Rosellinia necatrix* chez le mûrier en bêchant et en facilitant la solarisation du sol (Freeman et coll., 1990). Chez le mûrier, des observations comparables ont été faites dans certaines études. Par exemple, Tahama (1978) a observé que l'intensité du nanisme était moyenne dans les champs exposés à une forte intensité lumineuse et sévère dans les champs exposés à une faible intensité lumineuse. Saito et coll. (1978) ont découvert que la diminution de la survie des agents pathogènes responsables de la flétrissure des brindilles de mûrier *Fusarium lateritium* f. sp. *mori* et *F. solani* f. sp. *mori* dans le sol est plus prononcée du printemps à l'été que de l'automne à l'hiver ; ce qui indique que l'augmentation de la température du sol ne favorise pas l'apparition des agents pathogènes. Jolly (1987), dans le Karnataka, a proposé l'adoption du bêchage et de la taille des racines latérales après la récolte commerciale appelée "Aswina" pour lutter contre les nématodes. Sengupta et coll. (1990) prônent l'adoption du bêchage en profondeur en été pour tuer les oeufs et les larves de nématodes en les exposant à un fort rayonnement solaire et à une température élevée du sol ; ceci peut également permettre de réduire les basidiospores de *H. mompa* encore présents dans le sol (Itoi, 1941).

4) Système sanitaire et hygiène des fermes :

L'élimination des herbes nocives, la destruction des feuilles et des brindilles malades tombées et la suppression des emplacements susceptibles d'abriter des insectes vecteurs de maladies permettent de réduire l'incidence de nombreuses pathologies. Askeroova (1963) a suggéré d'éliminer les feuilles de mûrier tombées par le bêchage pour lutter contre la maladie de la tache marron (= tache foliaire) provoquée par *Cylindrosporium mori*. Hutton (1961) a observé que toutes les feuilles tombées et les extrémités de brindilles taillées doivent être brûlées pour éliminer la tache foliaire (= fausse rouille, provoquée par *Septogloeum mori*) et les maladies bactériennes du mûrier. Plusieurs autres travaux sur le mûrier montrent que l'élimination des herbes hôtes des agents pathogènes du nématode (*Meloidogyne incognita*) et du nanisme (Kawakita et Ishiie, 1976 ; Govindaiah et coll., 1989a), des feuilles tombées porteuses des cléistothèques de *P. corylea* et des agents pathogènes de la flétrissure bactérienne (Akoi, 1959 ; Kubomura et Nakayama, 1975) et des branches mortes contenant les spores de *H. mompa* (Itoi, 1941) permet de réduire l'incidence de ces maladies. De plus, le déracinement des plants de mûrier infestés par la mosaïque (Srisomchai et Brown, 1971) et la taille et le brûlage des extrémités de pousses affectées par la maladie de tukra (Sengupta et coll., 1990) sont proposés comme méthodes efficaces de lutte contre ces maladies. Cependant, Sukumar et Ramalingam (1989) ont montré que l'élimination des feuilles infestées par la tache foliaire (*C. moricola*) avant le début de la sporulation n'a que peu de valeur pratique car il n'est pas possible de procéder à l'examen approfondi de toutes les feuilles dans le cas des maladies à propagation rapide comme la tache foliaire.

5) Taille :

Chez le mûrier, la taille est réalisée dans le seul but d'améliorer le rendement en feuilles et de conserver la forme de la plante afin de permettre la récolte précoce des feuilles destinées au nourrissage des vers à soie. La taille améliore également la valeur nutritive de la feuille en minimisant la virulence de la maladie. Dès les années 1920, on a remarqué que la taille, à un stade précoce, des feuilles infestées permettait d'éliminer la flétrissure bactérienne, également appelée "aal seco" ou "flacheroto" en Italie, provoquée par *Bacterium mori* (= *P. syringae* pv. *mori*) (Savastano, 1923). Rhind (1924) a suggéré que l'oïdium (*P. corylea*) pouvait être réduit en coupant les arbustes malades et en vaporisant un fongicide approprié. Cependant, des études plus récentes montrent que la taille à la bêche avant le début de l'époque de prédominance de l'oïdium constitue la méthode la plus efficace de lutte contre cette maladie (appelée "Chaliamara", "Chakmara" ou "Mathemara" dans le Bengale occidental, Inde) (Biswas et coll., 1992c) car elle permet d'ôter les moignons et les racines superficielles, ce qui entraîne une diminution de la densité de l'inoculum primaire. De plus, cette méthode de taille peut également permettre de réduire la densité de l'inoculum du nanisme car l'agent pathogène (un organisme analogue au mycoplasme) reste latent dans les moignons et les racines (Miyashita et Yamada, 1982). Par ailleurs, la taille à différentes hauteurs de couronnes (15, 30 et 40 cm) n'a aucun impact sur

l'incidence des maladies foliaires du mûrier (Govindaiah et coll., 1990b) bien qu'il ait été observé que la taille des couronnes à une hauteur dépassant 30 cm entraîne une diminution du pourrissement du collet provoqué par *Sclerotium rolfsii* (Dayakar Yadav et Kasturibai, 1988).

6) Irrigation, paillage, fumure et amendement :

Ces méthodes favorisent en général la croissance et diminuent la durée du stade sensible de la plante en lui donnant une meilleure tolérance et en lui permettant de compenser les dommages occasionnés par les maladies. Parallèlement, elles permettent, en particulier la fumure et l'amendement, de modifier la physiologie de la plante, aidant ainsi la plante à surmonter les maladies infectieuses (Akoi et Matsuno, 1959 ; Anonyme, 1972b) et non infectieuses (Rangaswami et coll., 1976 ; Sengupta et coll., 1990). Cependant, la fumure et l'amendement sont des techniques utilisées surtout pour augmenter la productivité et pour améliorer la qualité des feuilles; les effets des infestations pathogènes n'étant pas pris en compte. Toutefois, les dosages de fumure et d'engrais, déterminés en fonction du système de plantation, de l'âge et de l'espacement des plants et du type de sol, permettent de soigner un certain nombre de désordres physiologiques : par exemple, la chlorose et la croissance lente par l'azote, le roussissement des bordures par le potassium, la chlorose des nervures par le phosphore, la nécrose et la chute des jeunes feuilles par le calcium, la chlorose et les taches nécrotiques des feuilles par le magnésium et la chlorose bénigne associée à une absence de nouvelle croissance par le soufre (Rangaswami et coll., 1976) ; la fumure et l'amendement peuvent conférer un certain degré de tolérance aux agents pathogènes. Il est évident que l'addition d'azote (urée) inhibe l'adhésion de *R. necatrix* à la matière organique appliquée dans la mûraie. Le potassium et le magnésium peuvent diminuer le pourrissement violet des racines. De plus, le potassium et les fumures organiques ne favorisent pas le nanisme (Anonyme, 1972b).

En revanche, l'irrigation seule n'a pas d'effet positif sur les maladies du mûrier. Elle entraîne une augmentation de l'incidence de la flétrissure bactérienne (Anonyme, 1938). Des résultats suggèrent indirectement qu'elle pourrait avoir un rôle positif sur l'apparition de la tache foliaire et sur la germination des conidies des agents pathogènes de l'oïdium et de la flétrissure *Fusarium* en augmentant le taux d'humidité des mûraies (Itoi et coll., 1960 ; Saito et Matuo, 1977 ; Siddaramaiah et coll., 1978a ; Lcu et Lee, 1982). De plus, la teneur en eau élevée des mûraies irriguées peut provoquer une augmentation de la formation des spores de *P. corylea* (Biswas et coll., 1992b). Néanmoins, son effet combiné à la fumure et à l'amendement accélère la croissance et diminue, dans une certaine mesure, la virulence des maladies dans les mûraies en permettant la formation de jeunes feuilles plus résistantes. Par exemple, une étude réalisée dans le Bengale occidental (Inde) a démontré que l'incidence de l'oïdium était plus faible dans les mûraies irriguées (Biswas et coll., 1992c).

Pour ce qui concerne l'effet du paillage sur les maladies du mûrier, Govindaiah et coll. (1990c) ont observé que le paillage des feuilles vertes de pongami et de margousier dans le sol diminuait le nombre de galles des racines et d'oeufs de nématode (*M. incognita*), entraînant ainsi une augmentation du rendement en feuilles. Sikdar et coll. (1983, 1986) ont proposé de pailler du tourteau de margousier (1 tonne/ha) quatre fois par an afin de réduire l'utilisation de substances chimiques. Toida (1978) a observé une activité nématocide chez les racines de souci. La culture de plants de souci dans les champs infestés par le nématode et le paillage après une certaine période de croissance peut constituer une mesure de lutte très efficace contre cette maladie.

LUTTE BIOLOGIQUE

Le rôle des prédateurs naturels a été étudié pour plusieurs agents pathogènes et parasites et, dans de nombreux cas, il a été démontré qu'ils jouaient un rôle significatif dans la diminution de l'incidence des maladies. Par exemple, l'espèce fongique la plus répandue, *Ampelomyces quisqualis*, qui parasite de nombreux types d'oïdium appartenant à différents genres, tolère de nombreux fongicides et est actuellement utilisée pour lutter contre les oïdiums et autres maladies des plantes (Sztejnberg et coll., 1989). Cet hyperparasite, lors de la phase de parasitisme biotrophique, interfère avec le métabolisme de l'énergie, la synthèse des protéines, la synthèse des parois cellulaires et probablement avec la régulation de l'hôte ; à terme, il provoque une dégénérescence de l'hôte en épuisant ses réserves d'énergie (Phillip, 1985). Chez le mûrier, on a également identifié des prédateurs naturels présentant

des possibilités d'utilisation dans la lutte contre les maladies. Par exemple, Sukumar et Ramalingam (1986) ont observé que les microorganismes phylloplanes *Cladosporium cladosporidies*, *Curvularia lunata* et *Pseudomonas maltophilia* sont fortement antagonistes de *C. moricola* tant *in vitro* qu'*in vivo*. De plus, à la lecture de la documentation disponible, il semble que *C. cladosporidies* et, dans une moindre mesure, *C. lunata* peuvent être efficaces contre l'oïdium chez le mûrier car on sait que ces deux espèces fongiques réduisent l'oïdium (*Erysiphe polygoni*) chez le pois (Srivastava et Bist, 1983) et que la première espèce (*Cladosporium* sp. d'après la documentation s'y rapportant) est parasitée par le champignon de l'oïdium du mûrier *P. corylea* (Rao et Sullia, 1981). En outre, les travaux de Freeman et coll. (1986), qui ont démontré qu'un isolat (T-8) de *Trichoderma harzianum* permet de diminuer l'incidence de *Rosellinia necatrix* dans les sols infestés artificiellement et naturellement, de manière stable et dans une période de 4 à 6 semaines, apportent un complément d'information pouvant être appliqué dans la lutte contre le pourrissement blanc des racines chez le mûrier.

Outre les microorganismes, plusieurs coccinellidés (Coleoptera) jouent un rôle significatif dans la lutte contre les maladies du mûrier. Au Japon, on a proposé de protéger les larves (asticots) des coccinelles à taches jaunes et blanches qui apparaissent vers le mois de juin et mangent les mycéliums et les conidies de l'oïdium (Anonyme, 1972b). Dans le Bengale occidental, Inde, les asticots et les adultes de la coccinelle jaune, dont le nom latin est *Illeis indica* Timb., peuvent être élevés sur les spores et les mycéliums de *P. corylea* (Bhattacharya et coll., 1994). De plus, Bhattacharya et coll. (*op. cit.*) ont observé que les adultes sont plus voraces que les asticots. Les feuilles débarrassées de l'oïdium et les feuilles normales sont indifféremment acceptées par les vers à soie et donnent des quantités de soie comparables. Au Karnataka, Inde, Reddy et coll. (1989) ont observé qu'une autre espèce (*I. cincta*) appartenant au même genre était également prédateur des colonies d'oïdium. De plus, on a suggéré de lâcher 8 à 10 coléoptères prédateurs *Cryptolaemus montronzieri* au début de l'infestation par la maladie de "Tukra" pour réduire de manière substantielle la population de l'organisme responsable de cette maladie : *Maconellicoccus hirsutus* (Janarthanan et Dhaira Beevi, 1990 ; Sengupta et coll., 1990).

DEVELOPPEMENT DE LA RESISTANCE DE L'HOTE

1) La résistance régulée génétiquement :

L'isolement d'une variété résistante dans le cadre de la lutte contre les maladies est d'importance capitale en moriculture car il permet de minimiser ou d'éviter l'emploi des autres moyens de lutte et les risques écologiques liés à l'utilisation excessive des fongicides et des pesticides, substances chimiques toxiques. De nombreux travaux suggèrent également qu'il existe, dans toutes les régions du monde, plusieurs variétés de mûrier présentant une résistance simple ou multiple aux maladies (Biswas et Sengupta, 1994 et références suivantes). Ces variétés ont été isolées par des méthodes comme la sélection (Bhinai, 1987 ; Govindaiah et coll., 1989b), l'hybridation (Shablovskaya et coll., 1977 ; Nikuradze, 1982) et la mutation par irradiation (Nakajima, 1972, 1973 ; Fujita, 1974 ; Fujita et Wada, 1983 ; Katagiri et coll., 1976) et par traitement chimique (Katagiri et coll., 1976 ; Kozikova, 1979). Cependant, aucune étude n'a encore été réalisée sur le développement de la résistance multiple chez une variété adaptée par culture tissulaire (Walker, 1965) en raison d'un manque de connaissances sur la physiologie et la génétique de la résistance. Néanmoins, certaines variétés performantes présentent une résistance multiple aux maladies et pourraient être cultivées dans les zones concernées. Par exemple, les variétés de mûrier "Tbilisuri", "Galicea" et "Arzu" sont résistantes à l'ensemble des maladies du mûrier (Csaiciu, 1971 ; Dzharfarov et coll., 1977) ; "Kenmochi" est résistante à la flétrissure des brindilles et aux maladies bactériennes (Anonyme, 1972b ; Shirata et coll., 1979) ; "Buriram-60" est résistante à l'oïdium et à la mosaïque (Anonyme, 1988a) ; "S54", "S36", "S799", "OPH-1", "AB × Phil" et "MR-2" sont résistantes à la tache foliaire et à l'oïdium (Pillai et Jolly, 1985 ; Boraiah et coll., 1987 ; Pasha et Barman, 1988 ; Anonyme, 1989-90 ; Govindaiah et coll., 1989b, 1990a ; Biswas et coll., 1993, 1992a) ; "Ykishirazu" est résistante à l'oïdium et au dépérissement (Kushibuchi, 1976).

Plusieurs autres variétés de mûrier performantes présentant une résistance à différentes maladies peuvent être utilisées dans les régions où une maladie donnée est dominante. Ces variétés comprennent "Ukraine-510" (résistante à la tache marron) (Mulov et Kozikova, 1972), "BSMR-4", (résistante à

l'oïdium) (Pasha et Barman, 1990), "Fukayuki" (déperissement) (Hazama, 1968 ; Matsuno et coll., 1987), "Husang", "Shinichinose", "Hyatesakari et "Minamisakari" (flétrissure bactérienne) (Hida et coll., 1978, 1982 ; Takahashi, 1980 ; Pathan, 1987 ; Akhtar et Sarwar, 1988), "Iveriya" et "Samgoruli", (enroulement foliaire bactérien) (Berdzenidze, 1973) ; "Akhartali-1", "Rioni", "Digmoskaya-125", "Imcruli-1" et "Imcruli-2" (nanisme) (Shablovskaya et coll., 1979, 1980 ; Shablovskaya, 1981 ; Kvachadze et Kakuliya, 1985) et C763 et S1 (maladie de tukra) (Anonyme, 1990).

2) Résistance de l'hôte induite :

Le développement de la résistance de l'hôte par l'utilisation d'inducteurs à base de phytoalexines (éliciteurs) constitue une nouvelle approche dans la lutte contre les maladies du mûrier (Biswas, 1991 ; Biswas et Sengupta, 1993). Cette technique est basée sur le fait que plusieurs agents biotiques (organismes fongiques, parois cellulaires des plantes et enzymes microbiennes) et abiotiques (métaux lourds et rayons ultraviolets) servent d'éliciteurs (Darvil et Albersheim, 1984) qui, après application, peuvent accumuler des quantités croissantes de composés antimicrobiens de poids moléculaire faible, c'est-à-dire les phytoalexines, et créent un potentiel de défense statique et dynamique chez l'hôte contre une infestation possible par un agent pathogène. De plus, chez le mûrier, on trouve de nombreux types de benzofuran et de stilbène sous la forme de phytoalexines (Takasugi et coll., 1980, 1982 ; Shirata et coll., 1982 ; Burke et Stevenson, 1985 ; Bose, 1989 ; Matsuyama et coll., 1991) qui se forment dans les 12 heures après l'infestation, leur formation durant environ 4 jours (Shirata et Takahashi, 1982). La plupart des phytoalexines inhibent un grand nombre d'espèces fongiques et de bactéries, y compris des agents pathogènes du mûrier. L'activité antifongique de la moracine A, de la moracine C et de la moracine D et l'activité antibactérienne de la moracine M sont très marquées (Shirata et coll., 1978, 1982).

LUTTE CHIMIQUE

Bien qu'il ait été démontré, dans le texte qui précède, que les mesures de lutte culturales et biologiques, dont l'utilisation de la résistance de l'hôte, sont efficaces contre la plupart des maladies du mûrier, il est possible que l'utilisation de ces méthodes ne permette pas d'obtenir le degré désiré de suppression d'une maladie et que des précautions supplémentaires, sous la forme d'une protection chimique, deviennent nécessaires. En effet, la protection chimique est indissociable d'un système intégré de lutte contre de nombreuses maladies. Cependant, l'utilisation des substances chimiques ne doit pas être considérée comme une mesure de lutte systématique. Elle ne doit être adoptée que lorsque ceci devient indispensable pour réduire les dommages économiques au moment le plus favorable à une efficacité maximale ; ceci permettra de minimiser les problèmes liés à l'utilisation excessive ou inappropriée des substances chimiques.

1) Traitement des sols et autres sources d'inoculum :

L'élimination des agents pathogènes dans les sols par l'utilisation des substances chimiques est l'étape la plus importante de la lutte contre les maladies des racines de mûrier. Ainsi, la fumigation du sol avec la chloropicrine, composé organique volatile, à raison de 450 g/m² permet d'inhiber les pourrissements violet et blanc des racines de mûrier respectivement provoqués par *H. mompa* et *R. necatrix* (Matuo et Sakurai, 1959 ; Kubomora et coll., 1970 ; Rangaswami et coll., 1976). Cependant, son utilisation sur le terrain n'est pas encore répandue car cette méthode est onéreuse et ne peut être adoptée dans les mûraies établies. En revanche, le pentachloronitrobenzène (PCNB), fongicide utilisé pour les sols et vendu sous les appellations commerciales "Brassicol", "Terrorator", "Botrilex", "Tritisan", etc., peut être utilisé dans la lutte contre le pourrissement des racines et autres agents pathogènes du mûrier vivant dans le sol. A très faible concentration, ce fongicide a un effet inhibiteur sur *R. necatrix* et, appliqué à raison de 240 g/m de sillon dans les mûraies établies infestées par cet agent pathogène, il permet d'éliminer efficacement cette maladie (Hiroyuki et Itoi, 1971). Il a un effet durable dû à l'action lente du fumigant et même son produit de décomposition, la pentochloroalaniline (PCA), a un effet inhibiteur sur l'agent fongique. Siddaramaiah et Patil (1984) ont proposé de traiter les boutures de mûrier en bourgeonnement infestées par la flétrissure *Sclerotium rolfsii* en imbibant le sol avec une solution à 0,2 % de PCNB.

D'autres désinfectants pour sol sont utilisés surtout pour traiter les nématodes du mûrier. Toida et coll. (1968) ont observé que le 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) et un nématicide à base de phosphore organique, le "Bayor 5121", sont assez efficaces contre le nématode lorsqu'ils sont appliqués à raison de 20 à 40 kg/10 ares à une profondeur de 10 cm. Sengupta et coll. (1990) ont proposé l'application d'Aldicarb ou de Carbofuran à raison de 30 kg/ha/an en quatre doses égales pour traiter efficacement cette maladie. La quantité d'Aldicarb peut être ramenée à 12 kg/ha/an lorsqu'il est appliqué avec 4 tonnes de tourteau de margousier par hectare (Sikdar et coll., 1983, 1986).

Les sources d'inoculum primaire autres que les sols peuvent également être traitées afin d'éliminer les agents pathogènes pour le mûrier. Lors d'une étude réalisée au Japon, il a été démontré que les cléistothèques de *P. corylea* qui hibernent sur les pousses de mûrier dormantes sont totalement éliminées par une seule application, en hiver, de l'hydrolysat de PCNB, le pentachlorophénol (PCP) (100 ×). L'oïdium est ainsi éliminé dès sa première apparition dans les mûraies traitées au printemps (Itoi et coll., 1964).

2) Traitement du feuillage par vaporisation ou épandage :

a) Les fongicides :

La vaporisation ou l'épandage de fongicides sur les plants de mûrier malades est une mesure de lutte courante à laquelle on s'est beaucoup intéressé ces dernières années (Sastri, 1984 ; Shree et Santakumari, 1986 ; Jolly, 1987 ; Anonyme, 1988b, Sengupta *et al.*, 1990 ; Biswas, 1992). Des résultats de diverses sources indiquent qu'un grand nombre de fongicides de diverses natures chimiques sont efficaces contre la plupart des maladies du mûrier. Par exemple, l'épandage de soufre fin (2 à 6 kg/ha) ou la vaporisation d'une suspension soufrée sur l'intérieur du mûrier une fois après le bourgeonnement et deux fois à 15 jours d'intervalle sont efficaces contre l'oïdium causé par *P. corylea* (Rangaswami et coll., 1976 ; Anonyme, 1988b). Rhind (1924) a observé que la bouillie sulfocalcique était assez efficace contre le champignon de l'oïdium. De plus, ce fongicide est également efficace contre la fausse rouille, provoquée par *S. mori* (Stewart, 1948 ; Hutton, 1961).

Outre les fongicides soufrés inorganiques, les composés organiques à base de soufre, comme les dérivés d'acide dithiocarbamique constituent un groupe très important de fongicides dans la lutte contre les maladies du mûrier. Le Zineb, le Ziram et la Polycarbicine sont efficaces contre la maladie de la tache marron (Ibragimov et Askerova, 1964 ; Chanturiya, 1967). Il a été démontré que le Zineb à 0,4 % réduisait de 85 % l'incidence de la maladie de la tache marron chez le mûrier. De plus, le Zineb et la Polycarbicine sont fortement actifs *in vitro* contre *F. lateritium* f. sp. *mori*, champignon responsable de la flétrissure des pousses et de la flétrissure des brindilles, ce qui suggère qu'ils sont efficaces lorsqu'ils sont appliqués en vaporisation foliaire (Gvinepadze, 1978 ; Gvinepadze et Gvadzava, 1978). Le fongicide Mancozeb, terme désignant l'acide éthylène-bis dithiocarbamique de manganèse et de zinc, donne, à la concentration de 0,25 %, une inhibition maximale de la tache foliaire causée par *F. solani* (Choudhary et Raj, 1986). Il est également fortement actif contre l'agent pathogène (*P. mori* = *P. syringae* pv. *mori*) de la flétrissure bactérienne dans des concentrations de 0,2 à 0,25 % (Gvinepadze et coll., 1978 ; Docea *et al.*, 1987 ; Sharma et Govindaiah, 1991).

L'application d'un fongicide à base de cuivre comme la bouillie bordelaise, préparée par réaction du sulfate de cuivre et de l'hydroxyde de calcium dans l'eau, est efficace contre l'oïdium du mûrier et la maladie de la tache marron à la concentration de 0,1 % et inhibe la fausse rouille (*S. mori*) lorsqu'il est vaporisé à une concentration de 1 % deux fois par an (Stewart, 1948 ; Wilfo, 1959 ; Hutton, 1961 ; Yokoyama, 1962 ; Askerova, 1963). De plus, l'oxychlorure de cuivre, composé de cuivre fixé, qui a la même action que la bouillie bordelaise, est fortement actif contre la maladie de la tache marron à la concentration de 0,25 % (Chanturiya, 1967).

Le Captan, composé azoté hétérocyclique, est tout à fait efficace à la concentration de 0,4 % contre la tache foliaire causée par *Phloeospora maculans* (Munshi et coll., 1987). Ce fongicide peut également être efficace contre la maladie de la tache marron et la flétrissure des brindilles (Ibragimov et Askerova, 1964 ; Gvinepadze, 1978 ; Gvinepadze et Gvadzava, 1978). Il a été démontré que ce fongicide inhibe environ 85 % des infestations par *Cylindrosporium*. De plus, Sharma et Govindaiah (1992) ont observé qu'il avait une activité antibactérienne contre *P. mori*.

Certains autres fongicides sont également efficaces contre les maladies du mûrier. Chanturiya (1967) a observé que le Melprex à 0,15 % (N-dodécylguanidine) est efficace contre la maladie de la tache marron causée par *C. maculans* (= *C. mori* ?). Le Dinocarp (cronate 2,4-dinitro-6-octylphényl et cronate 2,6-dinitro-4-octylphényl) à une concentration de 0,1 à 0,2 % et le Chinométhionat (carbonate 6-méthyl-quinoxaline-2,3-dithiocyclique) à 0,5 %, vaporisés deux à trois fois, sont efficaces contre l'oïdium du mûrier (Iyenger, 1975 ; Siddaramaiah et coll., 1978 ; Sengupta et coll., 1990).

Pour ce qui concerne l'effet des fongicides systémiques, les résultats publiés indiquent que le Carbendazim (méthyl-2-benzimidazole carbonate) est le produit le plus efficace dans la lutte contre les maladies du mûrier. Ce fongicide à la concentration de 0,05 %, vaporisé 2 à 3 fois à 15 jours d'intervalle, diminue l'incidence de la tache foliaire (*C. moricola*) et de l'oïdium (*P. corylea*) (Siddaramaiah et coll., 1978c ; Sikdar et Shenoï, 1980 ; Sikdar, 1987 ; Ahsan et coll., 1990). Biswas et coll. (1993a) ont observé une inhibition de 75 % de l'oïdium par vaporisation de Carbendazim à 0,15 % une seule fois après apparition de la maladie dans la mûraie. Ce fongicide est également efficace contre la tache foliaire (*F. solani*) et contre le chancre de la tige (*Botryodiplodia theobromae*) chez le mûrier (Shree, 1984 ; Choudhary et Raj, 1986). Plusieurs autres fongicides systémiques sont efficaces contre certaines des maladies foliaires du mûrier. Wang (1980) a observé que l'Oxycarboxine et la Triflorine étaient efficaces contre la rouille (*Aecidium mori*). Le Bénomyl est efficace contre la tache foliaire (*C. moricola*), la flétrissure des pousses (*F. lateritium*) et la flétrissure bactérienne (*P. mori*) (Gvinepadze, 1978 ; Gvinepadze et Gvadhava, 1978 ; Gvinepadze et coll., 1978 ; Sikdar et Shenoï, 1980).

Bien que, dans les paragraphes qui précèdent, il ait été rappelé que plusieurs fongicides sont efficaces contre diverses maladies du mûrier, tous ne sont pas appropriés à la lutte contre les maladies car certains conservent une toxicité résiduelle sur une période de temps assez longue. Il a été démontré que les feuilles traitées avec de la bouillie bordelaise, de la poudre de soufre et de la bouillie sulfocalcique conservent, jusqu'à 15 jours après vaporisation, une toxicité résiduelle qui affecte la santé des vers à soie (Ramakrishnan et Sudan, 1954 ; Anonyme, 1972a ; Jeyarajan, 1986) bien que les feuilles traitées avec de la poudre de soufre soient consommables par les vers à soie 15 jours après la dernière application si elles sont lavées soigneusement dans l'eau et essuyées avec un chiffon humide (Anonyme, 1972a ; Anonyme, 1988b). Cependant, dans le cas du Dinocarp, qui est fortement toxique pour les vers à soie juste après la vaporisation, l'action toxique est de très courte durée : sa toxicité réduit fortement en 5 jours et ne dure que jusqu'à 10 jours (Siddaramaiah et coll., 1978c). Certains fongicides, comme le Carbendazim et le Chinométhionat, n'ont aucune toxicité résiduelle même un seul jour après l'application (Iyenger, 1975 ; Siddaramaiah et coll., 1978b).

b) Les antibiotiques :

De même que les fongicides, les antibiotiques sont parfois vaporisés pour traiter les maladies du mûrier causées par des champignons, des bactéries et des organismes analogues au mycoplasme. Cependant, ces composés sont surtout utilisés contre les maladies bactériennes et principalement pour lutter contre la flétrissure bactérienne, maladie bactérienne répandue et grave, provoquée par *P. syringae* pv. *mori* (Ye et coll., 1977). Il a été démontré que la vaporisation de phyto bactéromycine, antibiotique systémique, dans une solution à 0,05 % contenant 1 % de glycérine est très efficace contre les maladies chez le mûrier (Chanturiya et Labakhue, 1963). De plus, à cette concentration, ce composé a un effet stimulant sur la germination des graines et la croissance du plant. Plusieurs autres antibiotiques comme le sulfate de streptomycine, la streptopénicilline et la streptocycline ont également été testés en laboratoire contre les maladies et il semble qu'ils soient efficaces sur le terrain à faible concentration (Krishna Prasad et Siddaramaiah, 1978). Pour ce qui concerne la lutte contre les maladies fongiques, Chanturiya et Gvinepadze (1972) ont observé que les antibiotiques antifongiques, la trichothécine (concentration à 0,02 %) et la polymycine (à 0,05 %), sont fortement actifs ; la polyoxine et la plastocidine sont modérément actifs contre la maladie de la tache marron chez le mûrier. De plus, les antibiotiques inhibent la fusariose de plantules de mûrier (Gvinepadze et Kadzhaya, 1977).

Le nanisme (causé par un organisme analogue au mycoplasme) des plantules de mûrier, qui est considéré comme la seule source d'infestation primaire en pépinière (Miyashita et Yamada, 1982),

peut être traité en immergeant les racines et les moignons, en particulier la région du collet des plantules (Ye et Gu, 1989) dans une solution à 100 ppm d'hydrochlorure de chlorotétracycline (auréomycine) et d'hydrochlorure de tétracycline (acromycine) du groupe tétracyclines des antibiotiques (Ishii, 1967). Cependant, la vaporisation foliaire de ces composés ne s'applique pas au traitement du nanisme des plants de mûrier car il a été observé, dans l'étude de Ishii et coll. (1971), que la vaporisation d'hydrochlorure de tétracycline (100 ppm) 15 fois à 2-3 jours d'intervalle après la taille d'été est inefficace.

c) Insecticides :

La vaporisation d'insecticides est utilisée surtout dans la lutte contre les parasites et contre les maladies pour lesquelles les parasites servent de vecteurs. Un grand nombre de résultats publiés indiquent que divers groupes d'insecticides sont efficaces contre les différents parasites du mûrier. Cependant, dans ce texte nous nous limitons aux insecticides efficaces contre les nématodes (discutés dans la section précédente), le nanisme et la maladie de tukra.

Il a été démontré que le nanisme du mûrier, causé par un organisme analogue au mycoplasme, pouvait être éradiqué en traitant la cicadelle *H. sellatus* avec des insecticides organophosphorés (Malathion, Sumithion, Dursban) et pyréthroïdes (Ripcord) (Tahama, 1968 ; Anonyme, 1972b, Yiem et coll., 1988). Parmi ces insecticides, le Malathion est le plus approprié car il est le plus efficace à grande échelle et le moins toxique (Reddy, 1968). Cet insecticide à la concentration de 0,2 % vaporisé par hélicoptère (Tahama, 1968) ou à 0,1 % vaporisé au sol (Anonyme, 1972d) doit être appliqué au moment de l'émergence de la 3^e feuille après la dormance du mûrier dans les zones tempérées où l'incidence des maladies est maximale. De plus, le Malathion inhibe la maladie la plus grave du Bengale occidental, le tukra (Anonyme, 1988b). Pour traiter cette maladie, on a également proposé la vaporisation de deux autres insecticides, le Méthyldémeton (0,2 %), insecticide systémique moins toxique, et le Parathion (0,01 à 0,02 %), en laissant un intervalle de 13 jours (d'après Samsijah, 1989, un intervalle de 16 jours est préférable) entre le traitement et le nourrissage (Ghosh, 1970 ; Jolly, 1987 ; Sengupta et coll., 1990).

CONCLUSIONS

Les résultats rapportés ici indiquent que de nombreux progrès sont réalisés dans les domaines fondamentaux portant sur les systèmes intégrés de lutte chez le mûrier. La documentation disponible sur les différentes techniques de lutte contre les maladies offre un cadre conceptuel satisfaisant pour la mise en route de ce système de recherche chez le mûrier, bien que la recherche fondamentale sur les interactions entre la plante, l'agent pathogène, le climat et le prédateur naturel n'en soit qu'à ses débuts. On ne connaît pour ainsi dire rien des systèmes de prévisions et de contrôle des maladies, systèmes qui offrent un vaste potentiel d'amélioration dans la prise de décision pour le choix opportun des mesures de lutte chimiques contre les maladies afin de prévenir les dommages économiques et assurer une efficacité maximale. De plus, les recherches sur la solarisation, le paillage avec des toiles en polyéthylène transparentes et épaisses et la plantation de plantes ou cultures pièges afin de juguler les agents pathogènes vivant dans le sol pourraient fournir des résultats applicables aux systèmes de lutte intégrés.

CHANGES IN THE DEVELOPMENTAL PROGRAMME OF *BOMBYX MORI* CAUSED BY ORAL TREATMENT WITH FENOXYCARB DURING THE LAST LARVAL INSTAR

L. CAPPELLOZZA¹, S. CAPPELLOZZA¹ & G. SBRENNNA²

1. Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione Specializzata per la Bachicoltura, Via dei Colli 28, 35100 Padova, Italy.
2. Dipartimento di Biologia, Università di Ferrara, Via Borsari 46, 44100 Ferrara, Italy.

Lots of last instar larvae of B. mori were fed on leaves treated with a solution (4 ng/l) of the insect growth regulator (IGR) Insegar (25% fenoxycarb) beginning from different days of the fifth instar and during different periods of time. Spinning percentages, survival rates, number of larvae which succeeded in becoming adult showed a strong correlation with the beginning of feeding on treated leaves and the duration of the feeding period. Our data suggest that no economic advantage may be obtained using fenoxycarb in sericulture and, on the contrary, confirm that the chemical is very dangerous to silkworm larvae.

Keywords: Fenoxycarb, silkworm, larva-pupa intermediate.

INTRODUCTION

Larvae of *Bombyx mori* fed on mulberry leaves treated with the insecticide Insegar (containing 25% a.i. fenoxycarb) show an anomalous protraction of the life cycle, are not able to spin their cocoons and become adult (Cappellozza *et al.*, 1990; Plantevin *et al.*, 1991; Sbrenna *et al.*, 1992).

Recently, it was observed that low dosages of fenoxycarb produce their effect during the last instar only, while no remarkable action seems to occur in previous instars.

Larvae fed on treated leaves till the end of the fourth instar and on untreated leaves throughout the fifth instar regularly spin their cocoons and do not show any trouble with metamorphosis (Cappellozza *et al.*, 1992).

Therefore we intended to experimentally ascertain whether during the last instar there is a "critical period" in which low dosages of fenoxycarb could cause an irreversible breakdown in metamorphosis and, in that case, to check its duration. The determination of a period of particular sensitiveness to the non terpenoid carbamate (Masner *et al.*, 1983) in *B. mori* may help to identify in which moment the chemical could interfere with the hormonal events which in normal conditions bring about the pupation and the metamorphosis into adult.

MATERIALS AND METHODS

Animals:

B. mori larvae [(BC 28 × UC) × (BG 40 × BG 8/I)] were fed on leaves harvested in the experimental mulberry field of the *Sezione Specializzata per la Bachicoltura* of Padua until the fourth moult. The temperature of rearing rooms was steadily maintained around 24 °C, relative humidity around 70% and the photoperiod was 12 hr of light and 12 hr of darkness in alternation. After the fourth moult, the larvae were divided into experimental lots.

Mulberry leaves:

Since experiments were carried out in the springtime of 1993 (period during which the use of Insegar was allowed against fruit pests in Italy) it was necessary to identify non polluted leaves. In fact, previous tests had shown that the mulberry leaves of Padua and of all northern Italy were polluted by fenoxycarb (data: *Associazione Nazionale Bachicoltori*, Italy). For this reason all the experiments were carried out with leaves of mulberry fields located in the south of Italy (Calabria). In fact, several tests demonstrated that this area had not been contaminated by Insegar, because the insecticide had not been used in large quantities during the springtime. Once harvested, the leaves were immediately transported to the *Sezione Specializzata per la Bachicoltura* of Padua, where experiments were carried out, and preserved in a refrigerator till the moment of feeding.

Treatments:

Leaves were treated on one side only with an Insegar solution of 4 ng/litre. Each square meter of leaf surface was accurately sprayed with 50 ml of the solution so that 0.2 ng of Insegar/m², i.e., 0.05 ng fenoxycarb, were distributed.

Due to the possible transfer of the chemical in the air (Arzone *et al.*, 1995) every precaution was taken to avoid any contamination among treated and untreated lots during leaf distribution and cleaning of the beds.

First kind of treatment:

Larvae were fed on untreated leaves from the first day of the fifth instar. Afterwards, the feeding of single lots (thirty larvae per lot) on untreated leaves was gradually substituted (every 24 hr) with feeding on treated leaves. In this manner the last lot to be fed on treated leaves resulted in treated for the 24 hr of the eighth day (192nd-216th hr) only (see Fig. 1).

Beginning from the ninth day (216th hr) all the larvae were fed on untreated leaves.

Second kind of treatment:

In this kind of treatment, as shown in Fig. 1, treated leaves were given to larvae for increasing periods of time. In fact, the last lot to be tested was fed on treated leaves for eight consecutive days. Nevertheless, from the ninth day (216th hr) of the last instar, all the larvae were fed on untreated leaves, as in the first kind of treatment.

Controls (lots of one hundred larvae) were reared in a different room from those lots reared on treated leaves. This room was quite far from the area where polluted leaves were distributed. This precaution was taken to avoid the transfer of the a.i. through the air.

Groups of one hundred larvae, called "pseudotreated", were fed on the same leaves (untreated) as the controls, but in the same room as the treated lots.

RESULTS

The behaviour concerning metamorphosis, both in the controls and in the treated lots, was complex and various, even in the same kind of treatments (Table I). However, they can be described as follows:

Controls:

In the controls the spinning of cocoons was regular. The mounting, in fact, occurred on the eighth day of the last instar and spinning was completed in 36-48 hr.

Pseudotreated:

Almost all the "pseudotreated" larvae mounted, but a little later than the controls. Some larvae (5%) in fact protracted the fifth instar until the 10-11th day (240-264th hr) and 2% were not able to spin their cocoons.

Effects on the first kind of treatment:

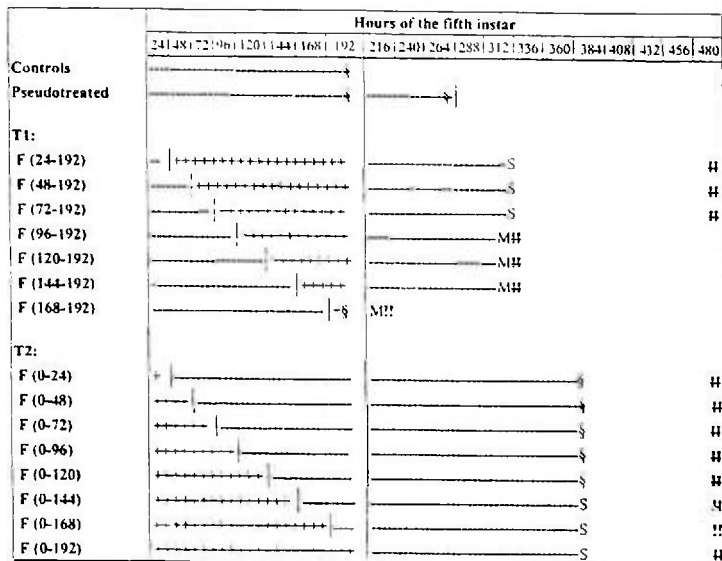
In this series of experiments an almost total absence of spinning behaviour from F(24th-192nd hr) to F(168-192nd hr) was observed (Table I).

Fig. 1: Description of metamorphosis events recorded in the different kinds of experiments.

----- Untreated leaves.
++++++ Treated leaves.
§ Spinning.
S Stopping of feeding.
!! Death.
M Supernumerary moulting.
T1: First kind of experiment.
T2: Second kind of experiment.

Fig. 1 : Evénements concernant la métamorphose relevés dans les deux types d'expériences.

----- Feuilles non traitées.
++++++ Feuilles traitées.
§ Filage.
S Arrêt du nourrissage.
!! Mort.
M Mue surnuméraire.
T1 : Premier type d'expérience.
T2 : Deuxième type d'expérience.



Nevertheless, larvae of lots F(24th-192nd hr)-F(72-192nd hr) continued feeding regularly until the 13th day (312th hr); afterwards, they stopped feeding and began wandering. Death occurred around the 20th day (480th hr) of the last instar.

Larvae of lots F(96th-192nd hr)-F(144th-192nd hr), on the contrary, after the 13th day attempted a supernumerary moult, but died without changing their old cuticle, which they were not able to shed.

The body of these individuals, in the case of extraction from the old cuticle, seems to be of a larval kind, with the exception of the head, characterized by the presence of antennae of the pupal kind in differentiation (Fig. 2).

Eventually, nearly all the larvae F(168th-192nd hr) fed on fenoxycarb-treated leaves on the eighth day only began spinning, but only 7% of these successfully completed their cocoons. Nevertheless, none of the larvae that spun their cocoons succeeded in pupation, but produced only larva-pupa intermediates inside the cocoon shells.

Effects of fenoxycarb on the second kind of treatment:

The more serious alterations in metamorphosis were recorded, the longer was the duration of treated leaf administration (Table I). In fact, the larvae of lots from F(0-24th hr) to F(0-120th hr) moulted on the 15th day (360th hr) of the fifth instar (markedly later than the controls and "pseudotreated"). In addition, the number of individuals which carried out this delayed spinning decreased according to the increase in treatment duration, from 85 to around 5-10%. Likewise, an increase in the number of dauer larvae was observed.

In this second experiment, all the "spinning" larvae needed almost eight days to complete their cocoons, but only some of these carried out pupation, while the others died without giving rise to any attempt of metamorphosis.

Beginning with lots F(0-144th hr) to F(0-192nd hr) it was only possible to obtain dauer larvae and no spinning attempts were observed.

Table I. Time and duration of spinning; rates of different metamorphosis behaviours according to various experimental conditions.

Tableau I. Moment et durée du filage ; pourcentages des différents comportements de métamorphose en fonction des conditions expérimentales.

	Beginning of spinning (hr)	Spinning duration (hr)	Spinning %	Pupation %	Dauer larvae	Attempts of fifth moult (%)
	<i>Début du filage (h)</i>	<i>Durée du filage (h)</i>	<i>Filage (%)</i>	<i>Nymphose (%)</i>	<i>Larves permanentes (%)</i>	<i>Tentatives de 5e mue (%)</i>
Controls / <i>Témoins</i>	192	24-36	100	100	-	-
Pseudotreated / <i>Pseudotraités</i>	192-264	36-48	98	98	2	-
T1						
F (24-192)	-	-	-	-	100	-
F (48-192)	-	-	-	-	100	-
F (72-192)	-	-	-	-	100	-
F (96-192)	-	-	-	-	20	75
F (120-192)	-	-	-	-	10	80
F (144-192)	-	-	-	-	-	100
F (168-192)	216	36-48	7	0	0	67
T2						
F (0-24)	360	192	85	40	13	0
F (0-48)	360	192	83	27	17	0
F (0-72)	360	192	70	37	30	0
F (0-96)	360	192	30	17	70	0
F (0-120)	360	192	7	0	76	0
F (0-144)	-	-	-	-	100	-
F (0-168)	-	-	-	-	100	-
F (0-192)	-	-	-	-	100	-

T1: First kind of treatment / *Premier type de traitement.*

T2: Second kind of treatment / *Deuxième type de traitement.*

Quantity of fenoxycarb ingested per larva:

Using the above-mentioned concentrations (solution of 4 ng/litre of Insegar) there were 0.2 ng of Insegar on 1 m² of leaf surface, i.e., 7.6×10^{-4} ng/g of leaves. Since the insecticide contains 25% a.i., it means there were about 0.19 pg fenoxycarb per gram of leaves.

In the whole last instar, each larva of the polyhybrid considered in this experiment ingested different quantities of leaves per day, as shown in Fig. 3, giving, as a result, a total leaf consumption of around 19 g/larva.

The maximum quantity of a.i. ingested by each larva in our experimental conditions (if the feeding on treated leaves is 8 days) may be estimated around 3.67 pg (Table II). Larvae of other lots ingested lower and different quantities of the chemical according to the kind of treatment. Particularly in the first kind of experiment the minimum dose of fenoxycarb ingested was around 0.5 pg, while in the second only 0.23 pg.

Table II. Leaf and fenoxycarb ingested by each larva.

Tableau II. Quantités de feuilles et de fénoxycarbe ingérées par une larve.

		Hours / Heures							
		0-24	0-48	0-72	0-96	0-120	0-144	0-168	0-192
Average wt. of ingested leaves (g)		1.25	3.00	5.00	7.75	10.60	13.80	16.80	19.45
Poids moyen des feuilles ingérées (g)									
Average of ingested fenoxycarb (pg) Moyenne de fénoxycarbe ingéré (pg)	T1								
	F (24-192)		0.33	0.71	1.23	1.77	2.37	2.94	3.44
	F (48-192)			0.38	0.90	1.44	2.04	2.61	3.11
	F (72-192)				0.52	1.06	1.66	2.23	2.73
	F (96-192)					0.54	1.14	1.71	2.21
	F (120-192)						0.60	1.17	1.67
	F (144-192)							0.57	1.07
	F (168-192)								0.50
	T2								
	F (0-24)	0.23							
	F (0-48)	0.23	0.56						
	F (0-72)	0.23	0.56	0.94					
	F (0-96)	0.23	0.56	0.94	1.46				
	F (0-120)	0.23	0.56	0.94	1.46	2.00			
	F (0-144)	0.23	0.56	0.94	1.46	2.00	2.60		
	F (0-168)	0.23	0.56	0.94	1.46	2.00	2.60	3.17	
	F (0-192)	0.23	0.56	0.94	1.46	2.00	2.60	3.17	3.67

T1: First kind of treatment / *Premier type de traitement.*T2: Second kind of treatment / *Deuxième type de traitement.*

In Table I, the percentage of spinning recorded in the various experimental conditions is indicated. It is remarkable that low dosages of fenoxycarb (lower than 1 pg) caused less serious effects on the complex mechanisms which regulate metamorphosis when ingested in the early instar rather than late, in the days immediately preceding moulting. In particular, around 0.5 pg, ingested in the 24 hr preceding the spinning, drastically reduced the spinning behaviour by 93%.

The ingestion of low quantities (never higher than 2 pg) of a.i., if limited to the early days of the last instar, let a certain number of larvae spin, but this event was almost delayed (in fact, as previously outlined, it occurred on the 15th day, i.e., 360th hr, of the fifth instar) and the cocoon formation needed eight days. Furthermore, none of the obtained pupae, even though they survived for weeks, resulted in the eclosion of adults.

According to the results of the second kind of treatment, it was observed that a low dose (lower than or equal to 0.5 pg) gave rise to around 80% spinning, even if delayed; for this reason we fed larvae of the strain BC 2 on leaves treated with an Insegar solution of 8×10^{-5} ng/litre of fenoxycarb during all of the last instar. The maximum quantity of the chemical ingested by each larva in eight days was around 7.3×10^{-5} pg. As a result, around 45% spinning begun on the 11th (264th hr) day of the fifth instar was obtained (controls regularly spun on the eighth day). However, only 30% of the larvae succeeded in becoming adults.

Silk production:

It was possible to observe that the average weight of the control cocoons was around $2.04 \text{ g} \pm 0.10$ and the weight of cocoon shells was around $0.49 \text{ g} \pm 0.09$; the average weight of cocoons obtained by lots F(0-24th hr)-F(0-120th hr) of the second kind of experiment was $3.09 \text{ g} \pm 0.20$ and that of cocoon shells was around $0.58 \text{ g} \pm 0.04$. Nevertheless, it should be outlined, as previously described, that these larvae needed seven days more than the controls to complete their cocoons.

A small increase in the weight of cocoon shells and silk percentage was also recorded in "pseudotreated" larvae. In fact, in 8-11 (192nd-264th hr) days these larvae produced cocoons that had an average weight of $2.70 \text{ g} \pm 0.13$, cocoon shells of $0.53 \text{ g} \pm 0.07$ and a silk percentage of 26%, 2% more than the controls.

Furthermore, also in the experiments with a dosage of $8 \times 10^{-5} \text{ ng/litre}$ the weight of the cocoons produced by the treated groups was higher ($1.61 \text{ g} \pm 0.05$) than in the untreated groups ($1.34 \text{ g} \pm 0.05$).

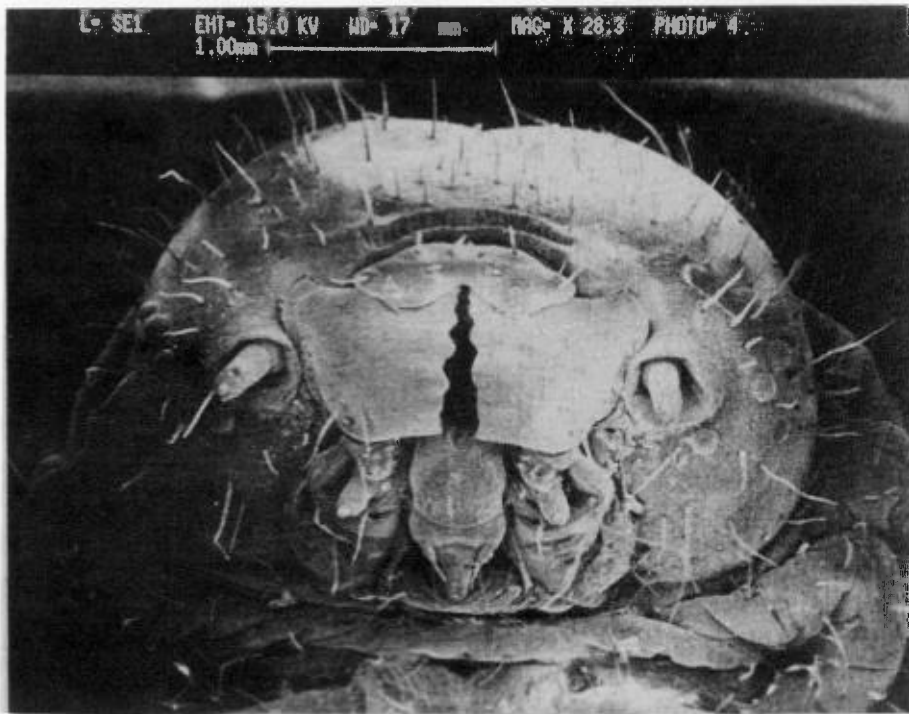


Fig. 2A: Normal head of fifth instar *Bombyx mori* larva, with antennae and oral appendices, observed through scanning electron microscope (SEM).

Fig. 2A: Tête normale de larve de *Bombyx mori* au cinquième âge, comportant les antennes et les appendices buccaux, observée au microscope électronique à balayage (SEM).

DISCUSSION

The results obtained in this series of experiments confirm the close relationship between the presence of fenoxycarb and the breakdown of the metamorphosis in the silkworm, *B. mori*; this breakdown brings, as a consequence, the absence of cocoon spinning, in agreement with previous findings regarding the same species (Cappellozza *et al.*, 1990; Plantevin *et al.*, 1991). The progressive decrease in the number of individuals which are able to spin their cocoons is in direct relationship with the increase in the number of days of treatment and demonstrates that there is not a critical period (Riddiford, 1985) before or after which the ingestion of this chemical could occur without metamorphic breakdown.

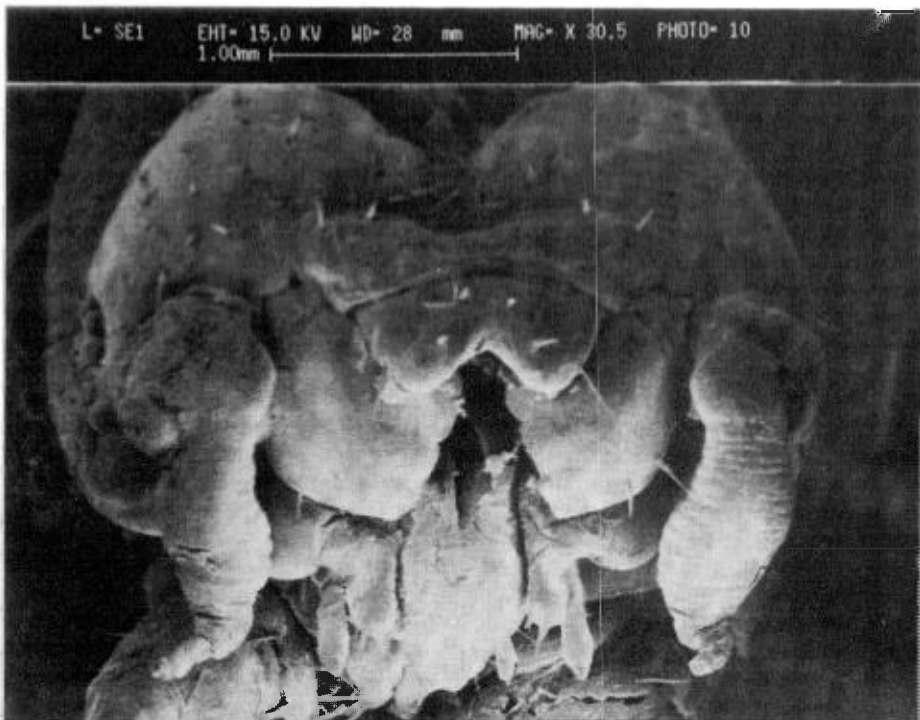


Fig. 2B: A head of *Bombyx mori* larva-pupa intermediate obtained from a last instar larva fed on fenoxycarb-treated leaves (120th-192nd hr).

Antennae of pupal type are anomalous and do not seem to be completely differentiated, as well as the oral appendages (SEM).

Fig. 2B : Tête d'intermédiaire larve-chrysalide de *Bombyx mori* obtenu à partir d'une larve du dernier âge nourrie avec des feuilles traitées au fénoxycarbe (120e à 192e h).

Les antennes, de type nymphal, sont anormales et ne semblent pas être complètement différenciées, ainsi que les appendices buccaux (SEM).

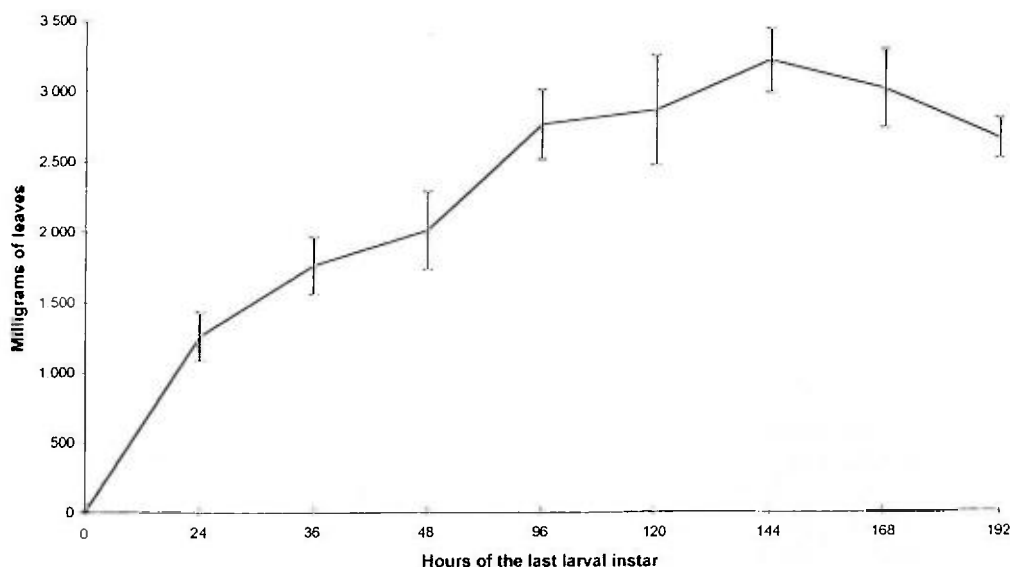


Fig. 3: Evolution of the daily consumption during the last larval instar.

Fig. 3 : Evolution de la consommation journalière au cours du dernier âge larvaire.

Moreover, as previously outlined by Plantevin *et al.* (1991) and Sbrenna *et al.* (1993), the metamorphic block of *B. mori* was obtained by the topical administration of fenoxycarb in doses as high as around 1 μ g, also before the fifth instar, i.e., during the early part of the third or fourth instar.

Nevertheless, the whole developmental process of the silkworm, pupation included (Dedos *et al.*, 1993) resulted sensitive to the chemical, less is known about the path of action, the target tissues and organs, the metabolic inactivation and minimum effective dose.

The experimental trials here described show that the insecticide acts as a powerful juvenile hormone (JH) analogue in last instar larvae, causing two different effects, according to the moment in which it comes in contact with the larvae. In fact, if administered in the former part of the instar, it seems to abolish the secretory activity of prothoracic glands (PGs) (in agreement with the findings of Sakurai *et al.*, 1989, and Sbrenna *et al.*, 1993), causing the inability to respond to PTTH (or even preventing its synthesis) and, therefore, to reprogramme the larva to the pupal stage.

On the contrary, when the chemical is administered in the latter part of the instar it switches to the PGs and the larva proceeds to the moulting. In this case, fenoxycarb could have the function of starting ecdysteroid secretion in the PGs like the JH (Williams, 1961; Hiruma, 1990) but not the metamorphic reprogramming. The results obtained in the experiments of the first kind, in which the a.i. was administered after the fourth day (96th hr) of the fifth instar, agree with this hypothesis. Under these conditions, in fact, fenoxycarb prevents spinning but cannot stop the release of ecdysone, and therefore moulting, which the larva is unable to complete. The appearance of larva-pupa intermediates provided with antennae not completely differentiated and showing alterations in mouth appendices is a consequence of the attempt of supernumerary moulting and confirms that the pupal commitment was blocked while moulting events were in progress.

With regard to the few individuals in which the a.i. was not effective in blocking moulting, spinning and pupation it should be remarked that it is difficult to explain how the chemical prevents

the eclosion of the adult, which remains inside the cocoon shell until death. Difficulty of eclosion was also recorded by Dedos *et al.* (1993) who topically treated pupae of *B. mori* with fenoxycarb.

Many authors, and particularly Washida (1984), Akai *et al.* (1985) and Chowdhary *et al.* (1986), recently outlined that the JH or its analogues may be used as insect growth regulators (IGR) of silkworm to increase silk production. The weight of the cocoon, in fact, seems to be proportional to the JH concentration and to the duration of the feeding period (Akai *et al.*, 1971; Chowdhary *et al.*, 1986).

For example, Akai *et al.* (1980) lengthened the larval stage by 1-2 days and at the same time obtained an increase of 10-20% in silk production with the administration of 0.31 µg/larva of JH.

On the other hand, Akai and Kobayashi (1971) demonstrated that 10 µg of JH prevent pupal development, including the spinning of the cocoon, and induce the formation of dauer larvae. Similar results were also obtained with JH analogues, as already outlined in 1972 by Chang *et al.* and afterwards by other authors. Sakurai and Imokawa (1988) induced the block of larval development with 1 µg of methoprene: the feeding behaviour of fifth instar larvae decreased and these became dauer; doses of 0.1 µg induced the block in 50% of the larvae, while treatments with 10 ng/larva let silkworms carry out the metamorphosis regularly.

According to our results, the impossibility of modulating the lengthening of larval life and/or obtaining a high percentage of spinning, as with other JH analogues, demonstrates the particular sensitiveness of *B. mori* to fenoxycarb. In fact, our experimental trials suggest that larvae fed on leaves treated in doses lower than 10^{-5} ng/l (corresponding to 1×10^{-3} pg/m², i.e., about 3.8×10^{-6} pg/g leaves) may be able to develop regularly and to spin their cocoons in a percentage of around 50%, even if with a delay of three days. Moreover, only in these conditions the chemical may have a juvenile hormone-like action, giving rise to the production of silk shells with a weight a little higher than the average.

Nevertheless, in our opinion, it is impossible to receive any economic advantages using fenoxycarb in sericulture. In fact, the high mortality of treated larvae, lengthening of the life cycle and difficulty to dose the a.i. in a field treatment make the use of the chemical uneasy to regulate. In addition, the extreme activity of the IGR is demonstrated by effects that may be verified on "pseudotreated" larvae (Plantevin *et al.*, 1991; Sbrenna *et al.*, 1993). Therefore the IGR is not useful as a juvenoid in increasing silk production and furthermore, in our opinion, is highly dangerous to silkworm rearing and to insects that have a metamorphic regulation similar to that of *B. mori*.

REFERENCES

- AKAI H., KIGUCHI K., MORI K. (1971) Increased accumulation of silk protein accompanying JH-induced prolongation of larval life in *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Appl. Ent. Zool.*, 6, 218-220.
- AKAI H., KIGUCHI K., KOBARI Y., SHIBUKAWA A. (1980) Practical utilization of juvenoids for increasing silk production. *In* Regulation of Insect Development and Behaviour. International Conference, Poland, 23-28 June.
- AKAI H., KIMURA K., KIGUCHI M., SHIBUKAWA A. (1985) Increase of silk production by repeated treatment with a juvenile hormone analogue. *J. Sericult. Sci. Japan*, 54, 297-299.
- AKAI H., KOBAYASHI M. (1971) Induction of prolonged larval instar by the juvenile hormone in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera, Bombycidae). *Appl. Ent. Zool.*, 6, 1938-1939.
- ARZONE A., DOLCI M., MARLETTO F., MINERO C. (1995) Translocation of fenoxycarb in the agroprato-ecosystem. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59(7), 1318-1319.
- CAPPELLOZZA L., MIOTTO F., MORETTO E. (1990) Effetti del fenoxycarb a basse concentrazioni sulle larve di *Bombyx mori* (Lepidoptera Bombycidae). *Redia*, LXXIII(2), 517-529.
- CAPPELLOZZA L., CAPPELLOZZA S., MIOTTO F. (1992) Ulteriore verifica sperimentale dei danni da fenoxycarb sui bachi da seta. *L'Inf. Agrario*, XLVIII(14), 41-44.
- CHANG C.F., MURAKOSHI S., TAMURA S. (1972) Giant cocoon formation in the silkworm, *Bombyx mori* L., topically treated with methylene dioxy-phenyl derivatives. *Agr. Biol. Chem.*, 36, 692-694.

- CHOWDHARY S.K., RAJU P.S., OGRA R.K. (1990) Effect of JH analogues on silkworm, *Bombyx mori* L., growth and development of silk gland. *Sericologia*, 30(2), 155-156.
- CHOWDHARY S.K., SENHAL F., RAJ S.K., RAJU P.S., SARITA M. (1986) Giant cocoon formation in *Bombyx mori* L. topically treated with juvenile hormone SJ-42-F. *Sericologia* 26(4), 455-459.
- DEDOS G.S., FUGO H. (1992) The usage of fenoxycarb and its influence on the sericulture. *Seric. Sci. Technol.*, 31, 30-33.
- DEDOS G.S., ASAHINA M., FUGO H. (1993) Effect of the fenoxycarb application on the pupal-adult development of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Sericult. Sci. Japan*, 62, 276-285.
- HIRUMA K. (1990) Possible roles of juvenile hormone in the prepupal stage of *Mamestra brassicae*. *Gen. Comp. Endocr.*, 41, 392-399.
- MASNER P., HUSLER G., PRYDE A., DORN S. (1983) Interaction between a non terpenoid carbamate with juvenile hormone activity and esterases in the last instar of *Adoxophyes reticulana*. *J. Insect Physiol.*, 29, 7, 569-574.
- PLANTEVIN G., GRENIER S., CHAVANCY G. (1991) Effets d'un régulateur de croissance d'insectes, le fénoxy-carbe, sur le développement post-embryonnaire de *B. mori* (Lepidoptera Bombycidae). *C.R. Acad. Sci. Paris*, 313, III, 513-519.
- RIDDIFORD L.M. (1985) Hormonal action at the cellular level. *In* Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. Vol. 7. Kerkut G.A., Gilbert L.I. Eds., Pergamon Press, New York, pp. 37-84.
- SAKURAI S., IMOKAWA H. (1988) Developmental arrest induced by juvenile hormone in larvae of *Bombyx mori*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 8, 219-228.
- SAKURAI S., OKUDA M., OHTAKI T. (1989) Juvenile hormone inhibits ecdysone secretion and responsiveness to prothoracicotropic hormone in prothoracic glands of *Bombyx mori*. *Gen. Comp. Endocr.*, 75, 220-230.
- SBRENNNA G., LEIS M., CAPPELLOZZA S., CAPPELLOZZA L. (1992) Effetti della somministrazione di ecdisteroidi su larve non filanti di *Bombyx mori* (Lepidoptera Bombycidae). *Redia*, LXXV(1), 189-202.
- SBRENNNA G., SBRENNNA-MICCIARELLI A., IANNE P. (1993) Effetti del fenoxycarb sulla metamorfosi di *Bombyx mori* (Lepidoptera). *Atti 55° Congresso U.Z.I., Torino*, 163.
- WASHIDA S. (1984) Influence of juvenile hormone analogues applied at fourth instar on larval growth and cocoon weight in *Bombyx mori*. *J. Sericult. Sci. Japan*, 53, 210-215.
- WILLIAMS C.M. (1961) The juvenile hormone II. Its role in the endocrine control of moulting, pupation and adult development in the *Cecropia* silkworm. *Biol. Bull.*, 121, 572-584.

MODIFICATIONS DU PROGRAMME DE DEVELOPPEMENT DE *BOMBYX MORI* PROVOQUEES PAR TRAITEMENT ORAL AU FÉNOXYCARBE AU COURS DU DERNIER AGE LARVAIRE

L. CAPPELLOZZA¹, S. CAPPELLOZZA¹ & G. SBRENNNA²

1. Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione Specializzata per la Bachicoltura, Via dei Colli 28, 35100 Padova, Italie.

2. Dipartimento di Biologia, Università di Ferrara, Via Borsari 46, 44100 Ferrara, Italie.

Des lots de larves de Bombyx mori du cinquième âge ont été nourries avec des feuilles de mûrier traitées avec une solution (4 ng/l) du régulateur de croissance (IGR) Insegar (25 % fénoxycarbe) en commençant le traitement à différents jours du cinquième âge et sur des laps de temps différents. Le pourcentage de filage, le taux de survie, le nombre de larves atteignant le stade adulte dépendent fortement du moment du début du nourrissage avec des feuilles traitées et de la durée du nourrissage. Nos données suggèrent que le fénoxycarbe ne présente aucun avantage sur le plan économique et confirment, au contraire, que ce produit chimique est très nocif pour les larves de ver à soie.

INTRODUCTION

Des larves de *Bombyx mori* nourries avec des feuilles de mûrier traitées avec l'insecticide Insegar (qui contient 25 % de fénoxycarbe comme matière active) présentent un allongement anormal de leur cycle larvaire, ne sont pas capables de filer et d'atteindre le stade adulte (Cappellozza et coll., 1990 ; Plantevin et coll., 1991 ; Sbrenna et coll., 1992).

Il a récemment été observé que le fénoxycarbe à faibles doses agit seulement au cours du dernier âge larvaire, alors qu'aucune action notable ne semble se produire au cours des âges précédents.

Les larves nourries avec des feuilles traitées jusqu'à la fin du quatrième âge et avec des feuilles non traitées pendant la totalité du cinquième âge filent leur cocon normalement et ne présentent aucun trouble de la métamorphose (Cappellozza et coll., 1992).

L'objet de cette étude est donc de déterminer, de manière expérimentale, si, au cours du dernier âge, il existe une "période critique" pendant laquelle le fénoxycarbe à faibles doses pourrait causer une inhibition irréversible de la métamorphose et, dans l'affirmative, de définir sa durée. La détermination d'une période de sensibilité particulière à ce carbamate non terpénoïde (Masner et coll., 1983) chez *B. mori* pourrait contribuer à identifier à quel moment ce produit chimique interfère avec les événements hormonaux qui, dans des conditions normales, provoquent la nymphose et la métamorphose en adulte.

MATERIELS ET METHODES

Animaux :

Des larves de *B. mori* [(BC28 × UC) × (BG40 × BG 8/1)] ont été nourries avec des feuilles provenant de la mûraie expérimentale de la *Sezione Specializzata per la Bachicoltura* de Padoue jusqu'à la quatrième mue. La température des pièces d'élevage a été fixée à environ 24 °C, l'humidité relative à environ 70 % et la photopériode à une alternance jour/nuit de 12 heures. Après la quatrième mue, les larves ont été divisées en lots expérimentaux.

Feuilles de mûrier :

Les expériences ayant été réalisées au printemps 1993 (période durant laquelle l'utilisation de l'Insegar contre les parasites des cultures fruitières était autorisée en Italie), il a été nécessaire d'identifier les feuilles non polluées. En effet, des expériences précédentes ont démontré que les feuilles de mûrier de Padoue et de l'ensemble de l'Italie du nord étaient polluées par le fénoxycarbe (données : *Associazione Nazionale Bachicoltori*, Italie). Pour cette raison, toutes les expériences ont été réalisées avec des feuilles de mûraies situées dans le sud de l'Italie (Calabre). En effet, de nombreux tests ont démontré que cette zone n'est pas contaminée par l'Insegar, cet insecticide n'ayant pas été utilisé en grandes quantités au printemps. Une fois récoltées, les feuilles ont été immédiatement transportées à la *Sezione Specializzata per la Bachicoltura* de Padoue, où les expériences ont été effectuées, et conservées dans un réfrigérateur jusqu'au moment du nourrissage.

Traitements :

Les feuilles ont été traitées sur une seule surface avec une solution d'Insegar de 4 ng/litre. Chaque mètre carré de surface foliaire a été soigneusement vaporisé avec 50 ml de cette solution, de sorte que 0,2 ng d'Insegar/m² (soit 0,05 ng de fénoxycarbe) a été distribué.

En raison du transfert possible du produit chimique par l'air (Arzone et coll., 1995), toutes les précautions ont été prises afin d'éviter une contamination entre les lots traités et non traités pendant la distribution des feuilles et le délitage.

Premier type de traitement :

Les larves ont été nourries avec des feuilles non traitées à partir du premier jour du cinquième âge. Le nourrissage des lots individuels (trente larves par lot) avec des feuilles non traitées a ensuite été progressivement remplacé (toutes les 24 heures) par un nourrissage avec des feuilles traitées. De cette manière, le dernier lot à être nourri avec des feuilles traitées a été traité uniquement pendant les 24 heures du huitième jour (192e à 216e heure) (voir Fig. 1).

A partir du neuvième jour (216e heure), toutes les larves ont été nourries avec des feuilles non traitées.

Deuxième type de traitement :

Dans cette série d'expériences, comme le montre la figure 1, les feuilles traitées ont été données aux larves pendant des durées croissantes. De ce fait, le dernier lot à être testé a été nourri avec des feuilles traitées sur huit jours consécutifs. Néanmoins, à partir du neuvième jour (216e heure) du dernier stade, toutes les larves ont été nourries avec des feuilles non traitées, comme dans le premier type de traitement.

Les témoins (lots de 100 larves) ont été élevés dans une pièce différente de celle utilisée pour les lots élevés sur feuilles traitées. Cette pièce est suffisamment éloignée de l'endroit où sont distribuées les feuilles polluées. Cette précaution a été prise afin d'éviter le transfert de la matière active par l'air.

Des groupes de 100 larves, appelés "pseudotraités", ont été nourris avec les mêmes feuilles (non traitées) que les témoins, mais dans la même pièce que les lots traités.

RESULTATS

Le comportement relatif à la métamorphose, chez les témoins et chez les lots traités, est complexe et variable, même pour un même type de traitement (Tableau I). Cependant, il peut être décrit comme suit :

Témoins :

Chez les témoins, le filage est normal. En fait, la montée se produit au huitième jour du dernier âge et le filage est terminé en 36 à 48 heures.

Pseudotraités :

Pratiquement toutes les larves "pseudotraitées" montent, mais un peu plus tard que les témoins. Certaines larves (5 %) subissent un allongement du stade larvaire jusqu'au 10^e ou 11^e jour (240^e à 264^e heures) et 2 % ne sont pas capables de filer leur cocon.

Effets du premier type de traitement :

Dans cette série d'expériences, on constate une absence presque totale de filage à partir de F(24^e à 192^e heure) à F(168^e à 192^e heure) (Tableau I).

Néanmoins, les larves des lots F(24^e à 192^e heure) à F(72^e à 192^e heure) continuent à s'alimenter normalement jusqu'au 13^e jour (312^e heure), après quoi elles arrêtent de se nourrir et commencent à divaguer. La mort survient vers le 20^e jour (480^e heure) du dernier âge.

Les larves des lots F(96^e à 192^e heure) à F(144^e à 192^e heure), au contraire, tentent une mue surnuméraire après le 13^e jour mais meurent sans parvenir à perdre leur vieille cuticule.

Le corps de ces individus, lorsqu'ils arrivent à s'extraire de leur vieille cuticule, semble être de type larvaire à l'exception de la tête, caractérisée par la présence d'antennes de type nymphal en termes de différenciation (Fig. 2).

Pratiquement toutes les larves F(168^e à 192^e heure) nourries avec des feuilles traitées au fénoxy-carbe commencent à filer au huitième jour, mais seulement 7 % d'entre elles réussissent à terminer leur cocon. Néanmoins, aucune des larves ayant filé un cocon ne parvient à la nymphose, toutes produisant des intermédiaires larves-nymphes à l'intérieur des coques soyeuses.

Effets du fénoxy-carbe sur le deuxième type de traitement :

Plus la durée de l'administration de feuilles traitées est longue, plus les perturbations de la métamorphose sont importantes (Tableau I). En effet, les larves des lots allant de F(0 à 24^e heure) à F(0-120^e heure) montent au 15^e jour (360^e heure) du cinquième âge (nettement plus tard que les témoins et que les "pseudotraités"). En outre, le nombre d'individus effectuant un filage retardé diminue en fonction de l'augmentation de la durée du traitement, de 85 à environ 5 ou 10 %. De même, on observe une augmentation du nombre de larves permanentes.

Dans cette deuxième expérience, toutes les larves qui filent mettent pratiquement huit jours à terminer leur cocon, mais seulement quelques unes arrivent à la nymphose tandis que les autres meurent sans tenter de métamorphose.

A partir des lots F(0 à 144^e heure) à F(0 à 192^e heure), on a obtenu uniquement des nymphes permanentes et aucune tentative de filage n'a été observé.

Quantité de fénoxy-carbe ingérée par larve :

Suivant les concentrations mentionnées plus haut (solution de 4 ng/litre), on a donc 0,2 ng d'Insegar par m² de surface foliaire, soit $7,6 \times 10^{-4}$ ng/g de feuilles. L'insecticide contenant 25 % de matière active, il y a environ 0,19 pg par gramme de feuilles.

Sur la totalité du dernier âge, chaque larve du polyhybride considéré dans cette étude a ingéré des quantités journalières différentes de feuilles, comme le montre la figure 3, correspondant à une consommation totale de feuilles de l'ordre de 19 g/larve.

La quantité maximale de matière active ingérée par chaque larve dans nos expériences (si le nourrissage avec des feuilles traitées est de 8 jours) peut être estimée à environ 3,67 pg (Tableau II). Les larves des autres lots ont ingéré des quantités plus faibles et différentes de produit chimique, en fonction du type de traitement. En particulier, dans le premier type d'expériences, la dose minimale de fénoxy-carbe ingéré est d'environ 0,5 pg contre seulement 0,23 pg dans le second.

Le pourcentage de filage relevé en fonction des conditions expérimentales est indiqué dans le tableau I. Il est intéressant de noter que de faibles doses de fénoxy-carbe (inférieures à 1 pg) provoquent des effets moins graves sur les mécanismes complexes qui régulent la métamorphose lorsqu'elles sont ingérées au début de l'âge, plutôt qu'à la fin de l'âge dans les journées précédant immédiatement la montée. En particulier, environ 0,5 pg, ingérés dans les 24 heures précédant le filage, entraînent une diminution considérable de 93 % du comportement de filage.

L'ingestion de quantités faibles (ne dépassant jamais 2 pg) de matière active, si elle est limitée aux premiers jours du dernier âge, n'empêche pas le filage de quelques larves, mais cet événement est

retardé (en fait, comme on l'a souligné précédemment, il se produit au 15^e jour, c'est-à-dire à la 360^e heure du cinquième âge) et la formation du cocon prend huit jours. De plus, aucune des chrysalides obtenues, bien qu'elles survivent pendant plusieurs semaines, ne donne d'adulte.

D'après les résultats obtenus pour le deuxième type de traitement, une dose faible (inférieure ou égale à 0,5 pg) donne 80 % de filage, même retardé. C'est pourquoi nous avons nourri des larves de la souche BC2 sur des feuilles traitées avec une solution d'Insegar de 8×10^{-5} ng/litre de fénoxycarbe sur toute la durée du dernier âge. La quantité maximale de produit chimique ingéré par chaque larve en huit jours est d'environ $7,3 \times 10^{-5}$ pg. En conséquence, environ 45 % du filage commence au 11^e jour (264^e heure) du cinquième âge (les témoins commencent toujours à filer au huitième jour). Cependant, seules 30 % des larves parviennent au stade adulte.

Production de soie :

Le poids moyen des cocons témoins est d'environ 2,04 g $\pm$ 0,10 et le poids de la coque soyeuse est d'environ 0,49 g $\pm$ 0,09 ; le poids moyen des cocons obtenus chez les lots F(0 à 24^e heure) à F(0 à 120^e heure) du deuxième type d'expériences est de 3,09 g $\pm$ 0,20 et celui de la coque soyeuse d'environ 0,58 g $\pm$ 0,04. Néanmoins, il convient de rappeler que ces larves mettent sept jours de plus que les témoins pour terminer leur cocon.

On a enregistré une légère augmentation du poids de la coque soyeuse et de la richesse soyeuse chez les larves "pseudotraitées". En fait, en 8 à 11 jours (192^e à 264^e heure) ces larves produisent des cocons dont le poids moyen est de 2,70 g $\pm$ 0,13, la coque soyeuse de 0,53 g $\pm$ 0,07 et la richesse soyeuse de 26 %, soit 2 % de plus que les témoins.

De plus, toujours dans les expériences avec un dosage de 8×10^{-5} ng/litre, le poids des cocons produits par les groupes traités est supérieur (1,61 g $\pm$ 0,05) à celui obtenu chez les groupes non traités (1,34 g $\pm$ 0,05).

DISCUSSION

Les résultats obtenus dans cette série d'expériences confirment la relation étroite entre la présence de fénoxycarbe et les troubles de la métamorphose chez le ver à soie *B. mori* ; ces troubles se traduisent par une absence de filage, conformément aux résultats décrits précédemment pour cette même espèce (Cappellosa et coll., 1990 ; Plantevin et coll. 1991). La diminution progressive du nombre d'individus capables de filer leur cocon est en relation directe avec l'augmentation du nombre de jours de traitement et démontre qu'il n'y a pas de période critique (Riddiford, 1985) avant ou après laquelle ce produit chimique pourrait être ingéré sans altérer la métamorphose.

De plus, comme l'ont souligné Plantevin et coll. (1991) et Sbrenna et coll. (1993), l'inhibition de la métamorphose chez *B. mori* a été obtenue par l'administration topique de fénoxycarbe à des doses pouvant atteindre 1 μ g et avant le cinquième âge, c'est-à-dire au début du troisième ou du quatrième âge.

Néanmoins, si l'on sait que le processus de développement du ver à soie, nymphose comprise (Dedos et coll., 1993) est sensible dans sa totalité au produit chimique, on dispose de moins d'informations sur le mode d'action, les tissus et organes ciblés, l'inactivation du métabolisme et la dose minimale efficace.

Les expériences décrites ici montrent que cet insecticide agit comme un analogue puissant d'hormone juvénile (JH) chez les larves du dernier âge, provoquant deux effets distincts, suivant le moment auquel il entre en contact avec la larve. En fait, lorsqu'il est administré dans la première partie de l'âge larvaire, il semble qu'il inhibe l'activité de sécrétion des glandes prothoraciques (PG) (conformément aux résultats de Sakurai et coll., 1989, et de Sbrenna et coll., 1993), provoquant une incapacité à répondre à la PTH (ou empêchant même sa synthèse) et, ainsi, à reprogrammer la larve au stade nymphal.

En revanche, lorsque le produit chimique est ingéré dans la dernière partie de l'âge, il se dirige vers les PG et la larve commence à monter. Dans ce cas, le fénoxycarbe pourrait avoir pour fonction de déclencher la sécrétion d'ecdystéroïdes chez les PG comme la JH (Williams, 1961 ; Hiruma, 1990)

mais pas la reprogrammation concernant la métamorphose. Les résultats obtenus dans les expériences du premier type, dans lesquelles la matière active est administrée après le quatrième jour (96e heure) du cinquième âge, corroborent cette hypothèse. Dans ces conditions, le fénoxycarbe empêche le filage mais n'est pas capable d'arrêter la libération d'ecdysone, donc de la mue que les larves sont incapables d'achever. L'apparition d'intermédiaires larves-chrysalides pourvus d'antennes qui ne sont pas totalement différenciées et qui présentent des malformations des appendices buccaux est la conséquence de la tentative de mue surnuméraire et confirme que la nymphose est inhibée pendant que les événements de mue sont en cours.

Pour ce qui concerne les quelques individus chez lesquels la matière active n'inhibe pas la montée, le filage et la nymphose, il convient de noter qu'il est difficile d'expliquer comment le produit chimique inhibe l'émergence de l'adulte, qui reste à l'intérieur de la coque jusqu'à sa mort. La difficulté d'émergence a également été observée par Dedos et coll. (1993) qui ont administré un traitement topique de fénoxycarbe sur des chrysalides de *B. mori*.

De nombreux auteurs, en particulier Washida (1984), Akai et coll. (1985) et Chowdhary et coll. (1986), ont récemment démontré que la JH ou ses analogues, pouvaient être utilisés comme régulateurs de croissance des insectes chez le ver à soie pour augmenter la production de soie. Le poids du cocon semble en effet être proportionnel à la concentration de JH et à la durée de la période de nourrissage (Akai et coll., 1971 ; Chowdhary et coll., 1986).

Par exemple, Akai et coll. (1980) ont obtenu un allongement du stade larvaire de 1 à 2 jours et, parallèlement, une augmentation de 10 à 20 % de la production de soie par administration de 0,31 µg/larve de JH.

Par ailleurs, Akai et Kobayashi (1971) ont démontré que 10 µg de JH inhibent le développement nymphal, y compris le filage du cocon, et induisent la formation de larves permanentes. Des résultats similaires ont également été obtenus avec des analogues de JH par Chang et coll. en 1972 et, par la suite, par d'autres auteurs. Sakurai et Imokawa (1988) ont induit un blocage du développement larvaire avec 1 µg de méthoprène : le comportement de nourrissage des larves du cinquième âge diminue et les larves deviennent permanentes ; des doses de 0,1 µg induisent ce blocage chez 50 % des larves, tandis que des traitements avec 10 ng/larves n'empêchent pas les larves de se métamorphoser normalement.

D'après nos résultats, l'impossibilité de moduler la longueur du stade larvaire et/ou d'obtenir un pourcentage de filage élevé, comme avec les autres analogues de JH, démontre la sensibilité spécifique de *B. mori* au fénoxycarbe. En effet, nos expériences suggèrent que les larves nourries avec des feuilles traitées avec des doses inférieures à 10^{-5} ng/l (correspondant à 1×10^{-3} pg/m², soit environ $3,8 \times 10^{-6}$ pg/g de feuilles) sont capables de se développer normalement et de filer leur cocon dans un pourcentage de l'ordre de 50 %, même avec trois jours de retard. De plus, c'est seulement dans ces conditions que le produit chimique peut avoir une action analogue à l'hormone juvénile, permettant la production de coques soyeuses d'un poids légèrement supérieur à la moyenne.

Néanmoins, nous pensons qu'il est impossible de tirer quelque profit que soit de l'utilisation du fénoxycarbe en sériciculture. En effet, la mortalité élevée des larves traitées, l'allongement du stade larvaire et la difficulté à doser la matière active dans un traitement sur le terrain rend ce produit chimique peu maniable. De plus, l'activité extrême de ce régulateur de croissance des insectes est démontrée par des effets vérifiables sur les larves "pseudotraitées" (Plantevin et coll., 1991 ; Sbrenna et coll., 1993). Ce régulateur de croissance des insectes, en tant que juvénoïde, ne permet pas d'augmenter la production de soie et est, à notre avis, excessivement nocif pour les élevages de vers à soie et pour les insectes ayant une régulation métamorphique similaire à celle de *B. mori*.

HISTOPATHOLOGY OF KENCHU VIRUS INFECTION IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

A. PETER, R. GOVINDAN & M.C. DEVAIAH

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore - 560065, India.

Histopathology of the Kenchu virus infection in the silkworm, Bombyx mori L., has been studied. Columnar cells of midgut epithelium are the target cells for infection. The infected cells exhibited hypertrophied nucleus, infolding of the nuclear membrane and peripheral condensation of chromatin. The virogenic stroma initially appeared as a small patch, which was less electron-dense compared to the surrounding nuclear matrix and later enlarged, occupying the entire nucleus. Based on the similarity in histopathological features and chronicity of infection between the Kenchu virus and BmDNV-2, it is strongly suggested that the Kenchu virus is probably an already existing Japanese isolate or a new isolate of BmDNV-2.

Keywords: Silkworm, *Bombyx mori*, Kenchu virus, histopathology.

INTRODUCTION

The Kenchu virus (KV) disease is one of the most prevalent types of silkworm flacherie in India. Early instars of the silkworm are more susceptible. The disease is characterized by the pale and reddish appearance of larvae, flaccidity, chain excreta and unequal-sized larvae (Hadimani, 1980).

The particle size of the virus is 27 ± 2 nm (Hadimani, 1980). There are two strains of KV, i.e., Bng-KV I and Bng KV II, having particles of two sizes: 18.42 ± 0.16 and 27.87 ± 0.79 nm and 26.01 ± 0.53 and 28.88 ± 0.45 nm, respectively. Both viral capsids have two major structural polypeptides, VP1 and VP2, with molecular weights of 72 and 75 kd (Bng-KV I) (Patil *et al.*, 1992a) and 52 and 58.5 kd (Bng-KV II) (Patil *et al.*, 1992b).

DNV of silkworms is of three types: BmDNV-1, BmDNV-2 and BmDNV-3, the particle size being 22 ± 0.5 , 21-22 and 23-24 nm, respectively (Kawase and Kurstak, 1991). BmDNV-2 is thought to consist of two particle sizes as it has DNA of two different lengths (Kawase *et al.*, 1984). BmDNV-1 has four, Saku isolate of BmDNV-2 has four (Kurihara *et al.*, 1984), while the Yamanashi isolate has six (Kawase *et al.*, 1984) and BmDNV-3 has six structural polypeptides (Kawase and Kurstak, 1991).

The close similarity in the physical characteristics of KV and BmDNV, except for changes in structural polypeptides, suggests that the former could be a densovirus. Histopathology is one of the ways of verifying this fact, and here we report some histopathological changes caused by the Kenchu virus infection in the midgut epithelium, the site of viral multiplication (Pratima, 1990). Information on the histopathology of KV infection in the silkworm is a little understood.

MATERIALS AND METHODS

Virus:

Silkworms experimentally infected with the Kenchu virus were homogenized in Sorensen's phosphate buffer (0.07 M, pH 7.2) in the ratio of 1:4 (W/V). The extract was refrigerated for 24 hours, filtered twice through a sterile muslin cloth, then through a Whatman No. 1 filter paper and the filtrate

was centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. The resulting supernatant was spun several times at 15,000 rpm for 30 minutes and the supernatant collected.

Inoculation of the virus:

Third instar larvae of the highly susceptible multivoltine strain, Pure Mysore, were starved for 12 hours immediately after the second moult and inoculated with the above virus. The virus suspension was smeared on sterilized mulberry leaves with a small piece of sterile absorbent cotton and allowed to dry and fed to a batch of larvae. A batch of uninoculated larvae was also maintained. Ten larvae were sampled out with the progress of the disease and were starved for 24 hours, dissected and the midguts were collected.

Preparation of specimen for electron microscopy:

The specimens were fixed in glutaraldehyde, washed, dehydrated, cleared, embedded in araldite and polymerized by a modified method (Johannessen, 1978). Semi-thin sections were cut first and observed under a light microscope, after which ultra-thin sections were made using ultramicrotome. Sections on grids were stained with uranyl acetate and observed under Joel JEM-100 CXII Model Transmission Electron Microscope.

RESULTS AND DISCUSSION

The healthy columnar and goblet cells of silkworm midgut epithelium are shown in Figure 1. The columnar cell is cylindrical with a number of apical microvilli, while the goblet cell is flask-shaped having a cavity and basal nucleus. The histopathological features of Kenchu virus infected midgut cells in comparison to the healthy cells are presented as follows:

Pathological changes in KV-infected midguts were observed only in columnar cells, indicating that these cells were the site of viral multiplication, which has been reported in BmDNV infections (Kawase and Kurstak, 1991).

The most striking feature of KV-infected columnar cells was hypertrophy of the nucleus (Fig. 2). The nucleus enlargement was to the magnitude of twice or more of the size of the healthy nucleus. Hypertrophy of nucleus has been reported in all BmDNV infections. In BmDNV-2 and BmDNV-3 infections, the nucleus was 2.5 times larger than that in the normal cell (Seki and Iwashita, 1983; Iwashita and Chun, 1982).

In Kenchu virus infected cells, the virogenic stroma was less dense than the surrounding nuclear matrix and appeared initially as a small patch (Fig. 2) which later enlarged and occupied the almost entire nucleus (Fig. 3 and 4). Comparative histopathology of BmDNV-1 and BmDNV-2 infections revealed that a compact virogenic stroma developed with a network within which massive virus development took place in the former, while in the latter, i.e., BmDNV-2 infection, the virogenic stroma was less dense than the surrounding nuclear matrix and occupied most of the nucleus (Watanabe and Kurihara, 1988). The nature of appearance of virogenic stroma, which was also less dense than the surrounding nuclear matrix in KV infection, was similar to that of BmDNV-2 infection.

There was a reduction in the chromatin content which was also condensed (Fig. 2, 3 and 4). The condensed chromatin was gradually pushed towards the periphery of the nucleus in later stages, resulting in peripheral condensation of chromatin. Watanabe and Kurihara (1988) have reported that in BmDNV-1 infected midgut cells the number of nucleoli increased but not in BmDNV-2 infected cells. Presently, in KV-infected cells also, the nucleoli did not increase in number. A similar phenomenon of peripheral condensation of chromatin was also observed in *Pseudoplusia includens* infected with a densovirus (Chao *et al.*, 1988).

Shallow infolding of the nuclear membrane was yet another change that was observed (Fig. 3). Electron microscopy of midguts of the mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis*, infrequently revealed a small number of columnar cells infected with BmDNV-2 in which a similar type of infolding was also observed (Watanabe *et al.*, 1988).

Watanabe and Kurihara (1988) reported BmDNV-2 infection to be chronic. Second instar larvae grew to a certain extent and the time of death varied between 10 and 20 days after infection, while DNV-1 infection was acute. KV infection is also chronic. In the susceptible silkworm strain, Pure

Fig. 1: Healthy columnar and goblet cells of the midgut epithelium (5000 $\times$).

C: Columnar cell. G: Goblet cell. L: Midgut lumen. M: Microvilli. N: Nucleus. GC: Goblet cavity. CR: Chromatin.

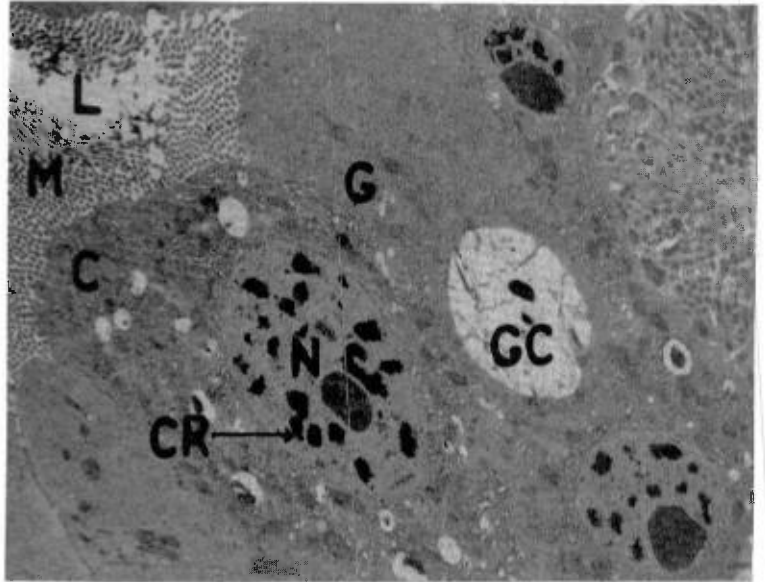


Fig. 1 : Cellule columnaire et cellule en goblet saines de l'épithélium de l'intestin moyen (5000 $\times$).

C : Cellule columnaire. G : Cellule en goblet. L : Lumen de l'intestin moyen. M : Microvillosités. N : Noyau. GC : Cavité en goblet. CR : Chromatine.

Fig. 2: Hypertrophied nucleus of a Kenchu virus-infected columnar cell with the initial virogenic stroma (5400 $\times$).

INM: Infolded nuclear membrane. V: Virogenic stroma. CCR: Condensed chromatin.

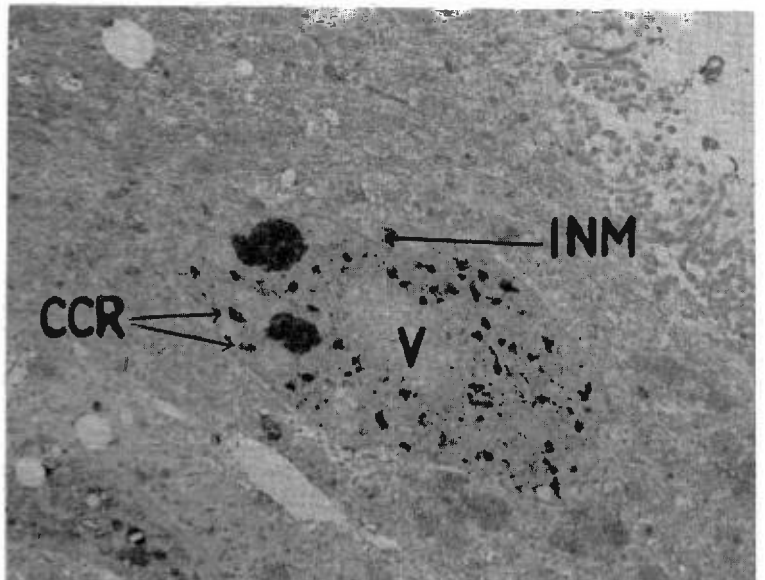


Fig. 2: Noyau hypertrophié d'une cellule columnaire infestée par le virus de Kenchu comportant le stroma virogène initial (5400 $\times$).

INM : Plissement de la membrane nucléaire. V : Stroma virogène. CCR : Chromatine condensée.

Fig. 3: Hypertrophied nucleus of a columnar cell showing increased virogenic stroma and infolded nuclear membrane (5500 $\times$).

INM: Infolded nuclear membrane. V: Virogenic stroma. CCR: Condensed chromatin.

Fig. 3 : Noyau hypertrophié d'une cellule columnaire montrant le stroma virogène agrandi et le plissement de la membrane nucléaire (5500 $\times$).

INM : Plissement de la membrane nucléaire. V : Stroma virogène. CCR : Chromatine condensée.

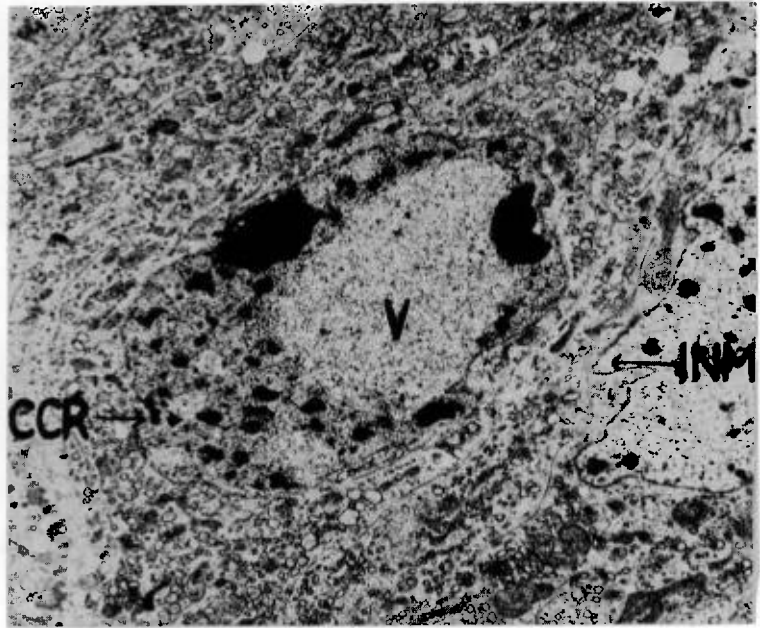
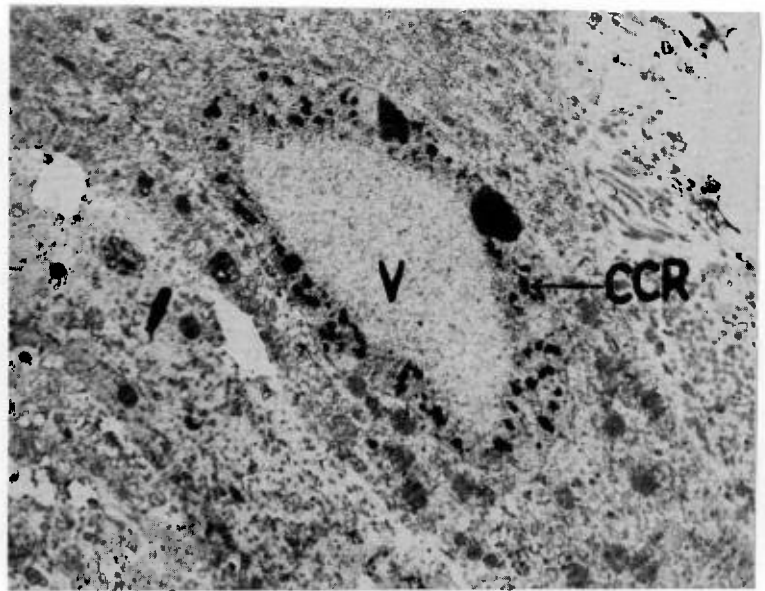


Fig. 4: Peripheral condensation of chromatin in the hypertrophied nucleus of a columnar cell (5000 $\times$).

V: Virogenic stroma occupying almost the entire nucleus. CCR: Peripherally condensed chromatin.

Fig. 4 : Condensation périphérique de la chromatine dans le noyau hypertrophié d'une cellule columnaire (5000 $\times$).

V : Stroma virogène occupant presque entièrement le noyau. CCR : Chromatine condensée à la périphérie.



Mysore, 50% mortality was observed in 14 days while in a relatively less susceptible bivoltine strain, NB₄D₂, it was 20 days in second instar larvae (Shyamala *et al.*, 1987).

The similarity in histopathological features between Kenchu virus infection and DNV infection in the silkworm strongly suggests that the Kenchu virus is a denisonucleosis virus. Further, similarity exists in certain specific changes — that is, the hypertrophy of the nucleus, the virogenic stroma being less dense than the surrounding nuclear matrix and the infolding of the nuclear membrane — between Kenchu virus and BmDNV-2 infections. There is also a similarity in the two particle sizes of the Kenchu virus and BmDNV-2 (Kawase *et al.*, 1984; Patil *et al.*, 1992a, Patil *et al.*, 1992b). The molecular weights of structural proteins of the Kenchu virus are comparable to those of BmDNVs. Although only two major structural proteins were distinguishable in Bng-KV II virus, there is a probability that other minor bands also exist (Patil *et al.*, 1992b). BmDNV-2 is known to possess 2 to 6 structural polypeptides, depending on the different isolates (Kurihara *et al.*, 1984; Kawase *et al.*, 1984). There is also a similarity between DNV-2 and Kenchu virus infections in that both are chronic and death occurs in 10 to 20 days post-inoculation in the second instar. Further, it could be noted that there is a lack of antigenic similarity between BmDNV-1 and IFV with the Kenchu virus (Shyamala *et al.*, 1987). In view of the above, it is strongly suggested that the Kenchu virus of the silkworm is probably an already existing Japanese isolate or a new isolate of BmDNV-2. Nevertheless, detailed serological tests involving BmDNV-2 and Kenchu virus may throw further light on this aspect.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Dr Rama Mohan and staff of the Electron Microscopy Unit, Department of Neuropathology, National Institute of Mental Health and Neurosciences, Bangalore, India, for extending help in electron microscopy.

REFERENCES

- CHAO Y., YOUNG-III S.Y., KIM K.S., SCOTT H.A. (1985) A newly isolated denisonucleosis virus from *Pseudoplusia includens* (Lep.: Noctuidae). *J. Invertebr. Pathol.*, 46, 70-82.
- HADIMANI A.K. (1980) Studies on the nature of Kenchu disease of silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus, in Karnataka. M.Sc. (Agri.) Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India, 91 pp.
- IWASHITA Y., CHUN C.Y. (1982) The development of a denisonucleosis virus isolated from silkworm larvae, *Bombyx mori*, of China. In *Ultrastructure and Functioning of Insect Cells*. Eds. H. Akai, R.C. King, S. Morohosi, Soc. Insect Cells, Tokyo, 161 pp.
- JOHANNESSEN J.V. (1978) *Electron Microscope in Human Medicine*, Vol. 1. McGraw Hill Int. Book Company, New York, 348 pp.
- KAWASE S., CATY M., BANDO H., SEKI H. (1984) Chemical properties of the Yamanashi isolate of *Bombyx* denisonucleosis virus. *J. Sericult. Sci. Japan*, 53, 341-347.
- KAWASE S., KURSTAKE E. (1991) Parvoviridae of invertebrates: denisonucleosis virus. pp. 315-343. In *Viruses of Invertebrates*. Ed. E. Kurstak, Marcel Dekker Inc., New York.
- KURIHARA Y., WATANABE H., MAEDA S., SHIMIZU T. (1984) Chemical characteristics of a previously undescribed denisonucleosis virus isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Sericult. Sci. Japan*, 53, 33-40.
- PATIL C.S., SPENCE K.D., GURUSIDDAIAH S., KYRIAKIDES T.R., DANDIN S.B. (1992a) Studies on the Kenchu virus disease of the silkworm, *Bombyx mori* L.: I. Purification and properties of Bng-KV I virus. *Sericologia*, 32, 37-45.
- PATIL C.S., SPENCE K.D., GURUSIDDAIAH S., KYRIAKIDES T.R., DANDIN S.B. (1992b) Studies on the Kenchu virus disease of the silkworm, *Bombyx mori* L.: II. Purification and properties of Bng-KV II virus. *Sericologia*, 32, 369-378.
- PRATIMA R.R. (1990) Site of infection of Kenchu virus and racial susceptibility of silkworm, *Bombyx mori* L. M.Sc. (Seri.) Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, 104 pp.

- SEKI H., IWASHITA Y. (1983) Histopathological features and pathogenicity of a densovirus of the silkworm, *Bombyx mori* L., isolated from the sericultural farms in Yamanashi Prefecture. J. Sericult. Sci. Japan, 52, 400-405.
- SHYAMALA M.B., GOVINDAN R., HADIMANI A.K., NARAYANASWAMY T.K., ESWARAPPA S. (1987) Kenchu, a Silkworm Flacherie in Karnataka. UAS Technical Series, University of Agricultural Sciences, Bangalore, 146 pp.
- WATANABE H., KURIHARA Y. (1988) Comparative histopathology of two densovirus infections in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Invertebr. Pathol., 51, 287-290.
- WATANABE H., KURIHARA Y., WANG Y. (1988) Mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis*: Habitual host of nonoccluded viruses pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori*. J. Invertebr. Pathol., 52, 401-408.

HISTOPATHOLOGIE DE L'INFESTATION PAR LE VIRUS DE KENCHU CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

A. PETER, R. GOVINDAN & M.C. DEVAIAH

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore - 560065, Inde.

On a étudié l'histopathologie de l'infestation par le virus de Kenchu chez le ver à soie Bombyx mori L. Les cellules columnnaires de l'épithélium de l'intestin moyen sont les cellules cibles de l'infestation. Les cellules infestées présentent une hypertrophie du noyau, un plissement de la membrane nucléaire et une condensation périphérique de la chromatine. Les stromas virogènes apparaissent initialement sous la forme d'une petite tache, moins dense en électrons que la matrice nucléaire environnante, qui s'élargit ensuite pour occuper la totalité du noyau. La similarité des caractères histopathologiques et de la chronicité de l'infestation entre le virus de Kenchu et BmDNV-2 suggère fortement que le virus de Kenchu est probablement un isolat japonais déjà existant ou un nouvel isolat de BmDNV-2.

INTRODUCTION

La maladie du virus de Kenchu (KV) est l'un des principaux types de flacherie en Inde. Les premiers âges du ver à soie sont les plus sensibles. Cette maladie se caractérise par l'apparence rouge pâle des larves, la flaccidité du corps, des excréments en chaîne et une irrégularité de la taille des larves (Hadimani, 1980).

La taille de la particule du virus est de 27 ± 2 nm (Hadimani, 1980). Il existe deux souches de KV (Bng-KV I et Bng-KV II) ayant des particules mesurant respectivement $18,42 \pm 0,16$ et $27,87 \pm 0,79$ nm, d'une part, et $26,01 \pm 0,53$ et $28,88 \pm$ nm, d'autre part. Les deux capsides virales possèdent deux polypeptides structuraux majeurs, VP1 et VP2, dont les poids moléculaires sont de 72 et 75 kd (Bng-KV I) (Patil et coll., 1992a) et 52 et 58,5 kd (Bng-KV II) (Patil et coll., 1992b).

Le DNV du ver à soie est de trois types : BmDNV-1, BmDNV-2 et BmDNV-3 ; les particules de ces trois types mesurent respectivement $22 \pm 0,5$, 21-22 et 23-24 nm (Kawase et Kurstak, 1991). On pense que BmDNV-2 est composé de deux tailles de particules car il a un ADN de deux longueurs différentes (Kawase et coll., 1984). BmDNV-1 et l'isolat de Saku de BmDNV-2 possèdent quatre polypeptides structuraux (Kurihara et coll., 1984) tandis que l'isolat de Yamanashi (Kawase et coll., 1984) et BmDNV-3 (Kawase et Kurstak, 1991) en ont six.

L'étroite similarité des caractéristiques physiques de KV et de BmDNV, hormis les changements des polypeptides structuraux, suggère que KV pourrait être un virus de la densonucléose. L'histopathologie constitue une des méthodes permettant de vérifier cette hypothèse et nous décrivons ici certaines modifications histopathologiques provoquées par l'infestation par le virus de Kenchu dans l'épithélium de l'intestin moyen, site de la multiplication virale (Pratima, 1990). Les informations recueillies permettent de mieux comprendre l'histopathologie de l'infestation par le virus de Kenchu chez le ver à soie.

MATERIELS ET METHODES

Virus :

Des vers à soie infestés en laboratoire par le virus de Kenchu ont été broyés dans un tampon phosphate de Sorensen (0,07 M, pH 7,2) dans un rapport de 1:4 (P/V). L'extrait a été réfrigéré pendant 24 heures, filtré deux fois à travers un tissu en mousseline stérile, puis à travers un filtre Whatman n° 1 ; le filtrat a ensuite été centrifugé à 3 000 tours/minute pendant 10 minutes. Le surnageant obtenu a été centrifugé à 15 000 tours/minute pendant 30 minutes ; le surnageant a ensuite été prélevé.

Inoculation du virus :

Des larves du troisième âge de la souche polyvoltine fortement sensible Pure Mysore ont été privées de nourriture pendant 12 heures dès la sortie de la deuxième mue et inoculées avec le virus. La suspension virale a été étalée à l'aide d'un tampon de coton hydrophile stérile sur des feuilles de mûrier stérilisées ; une fois séchées, les feuilles ont été données à un lot de larves. Un lot de larves non inoculées a également été maintenu. Dix larves ont été sélectionnées afin d'étudier la progression de la maladie, privées de nourriture pendant 24 heures et disséquées afin de prélever les intestins moyens.

Préparation des échantillons pour l'examen au microscope électronique :

Les spécimens ont été fixés dans de la glutaraldéhyde, lavés, déshydratés, nettoyés, incluss dans de l'araldite polymérisée selon une méthode modifiée (Johannesen, 1978). Des coupes semi-fines ont tout d'abord réalisées et observées au microscope optique, des coupes ultra-fines ont ensuite été réalisées à l'aide d'un ultramicrotome. Les coupes montées sur des lames ont été colorées avec de l'acétate d'uranyl et observées au microscope électronique à transmission (modèle Joel JEM-100 CXII).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les cellules columnnaires et en goblet saines de l'épithélium de l'intestin moyen du ver à soie sont présentées dans la figure 1. La cellule columnnaire est cylindrique et comporte un certain nombre de microvillosités, tandis que la cellule en goblet a la forme d'une coupe, avec une cavité et un noyau basal. Les caractères histopathologiques des cellules de l'intestin moyen infestées par le virus de Kenchu et ceux des cellules saines sont décrits ci-dessous.

Les modifications pathologiques intervenant dans les intestins moyens infestés par le virus de Kenchu n'apparaissent que dans les cellules columnnaires, ce qui indique que ces cellules forment le site de la multiplication virale, comme cela a été observé dans le cas des infestations par BmDNV (Kawase et Kurstak, 1991).

Le trait le plus frappant des cellules columnnaires infestées par KV est l'hypertrophie du noyau (Fig. 2). L'agrandissement du noyau par rapport aux cellules saines est d'un facteur 2 ou supérieur. L'hypertrophie du noyau a été décrite dans tous les cas d'infestations par BmDNV. Dans les infestations par BmDNV-2 et BmDNV-3, le noyau est 2,5 fois plus grand que celui des cellules normales (Seki et Iwashita, 1983 ; Iwashita et Chun, 1982).

Chez les cellules infestées par le virus de Kenchu, le stroma virogène est moins dense que la matrice cellulaire environnante et apparaît initialement sous la forme d'une petite tache (Fig. 2) qui s'élargit ensuite pour occuper presque la totalité du noyau (Fig. 3 et 4). L'histopathologie comparée des infestations par BmDNV-1 et BmDNV-2 révèle que, dans le premier cas, un stroma virogène compact se développe en un réseau à l'intérieur duquel se produit un développement massif du virus, tandis que, dans le deuxième cas, c'est-à-dire pour l'infestation par BmDNV-2, le stroma virogène est moins dense que la matrice nucléaire environnante et occupe presque la totalité du noyau (Watanabe et Kurihara, 1988). La nature de l'aspect du stroma virogène, qui est également moins dense que la matrice nucléaire environnante dans le cas de l'infestation par KV, est similaire à celle observée pour l'infestation par BmDNV-2.

On observe une diminution et une condensation du contenu chromatinien (Fig. 2, 3 et 4). La chromatine condensée est progressivement repoussée vers la périphérie du noyau aux stades ultérieurs,

entraînant une condensation périphérique de la chromatine. Watanabe et Kurihara (1988) ont observé que, chez les cellules de l'intestin moyen infestées par BmDNV-1, le nombre de nucléoles augmente mais pas chez les cellules infestées par BmDNV-2. Dans le cas présent, le nombre de nucléoles n'augmente pas non plus chez les cellules infestées par KV. Un phénomène similaire de condensation périphérique de la chromatine a également été observé chez *Pseudoplusia includens* infesté avec un virus de la denso nucléose (Chao et coll., 1988).

L'une des autres modifications observées est le léger plissement de la membrane nucléaire (Fig. 3). L'examen au microscope électronique des intestins moyens de la pyrale du mûrier *Glyphodes pyloalis* a montré, chez un petit nombre de cellules columnaires infestées par BmDNV-2, un type similaire de plissements (Watanabe et coll., 1988).

Watanabe et Kurihara (1988) ont démontré que l'infestation par BmDNV-2 est chronique. Les larves du deuxième âge se développent jusqu'à un certain point et le moment de la mort se situe entre 10 et 20 jours après l'infestation, tandis que l'infestation par DNV-1 est aiguë. L'infestation par KV est également chronique. Chez la souche de ver à soie sensible Pure Mysore, on observe une mortalité de 50 % en 14 jours, tandis que chez une souche bivoltine relativement moins sensible, NB4D2, la mortalité intervient après 20 jours chez les larves du deuxième âge (Shyamala et coll., 1987).

La similarité des caractères histopathologiques entre l'infestation par le virus de Kenchu et l'infestation par DNV chez le ver à soie suggère fortement que le virus de Kenchu est un virus de la denso nucléose. De plus, il existe une similarité entre certaines modifications spécifiques (hypertrophie du noyau, stroma virogène moins dense que la matrice nucléaire environnante et plissement de la membrane nucléaire) entre l'infestation par le virus de Kenchu et l'infestation par BmDNV-2. La taille des particules chez le virus de Kenchu et chez BmDNV-2 est également comparable (Kawase et coll., 1984 ; Patil et coll., 1992a ; Patil et coll., 1992b). Les poids moléculaires des protéines structurales du virus de Kenchu sont comparables à ceux des protéines de BmDNV. Bien que l'on n'ait pu distinguer que deux protéines structurales majeures chez le virus Bng-KV II, il est probable que d'autres bandes mineures existent également (Patil et coll., 1992b). On sait que BmDNV-2 possède 2 à 6 polypeptides structuraux, suivant l'isolat (Kurihara et coll., 1984 ; Kawase et coll., 1984). Les infestations par DNV-2 et par le virus de Kenchu sont également toutes les deux chroniques et entraînent la mort dans les 10 à 20 jours post-inoculation au deuxième âge. On peut en outre noter l'absence de similarité antigénique entre le BmDNV-1 et l'IFV avec le virus de Kenchu (Shyamala et coll., 1987). Ces résultats suggèrent fortement que le virus de Kenchu du ver à soie est probablement un isolat japonais déjà existant ou un nouvel isolat de BmDNV-2. Néanmoins, des test sérologiques approfondis utilisant BmDNV-2 et le virus de Kenchu pourraient permettre de faire la lumière sur cette question.

STUDIES ON THE SPECIFIC ACTIVITY OF 3-PHOSPHOGLYCERATE DEHYDROGENASE IN THE EVOLVED BIVOLTINE RACES MU₇₁₆ AND MU₇₁₈ OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

V.G. MARIBASHETTY¹ & G. SREERAMA REDDY²

1. Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura,
Bangalore - 560 062, India.

2. Department of Sericulture, University of Mysore, Manasagangothri, Mysore - 570 006, India.

*The important amino acids taking part in the biosynthesis of silk are glycine, alanine, tyrosine and serine present in the haemolymph in variable concentrations. Of the four amino acids, the biochemical pathway of serine, glycine and alanine is different from tyrosine. Glycine, a major constituent of fibroin, is derived from serine by transhydroxymethylase activity. Serine, which forms a precursor for the synthesis of glycine, is synthesized by the oxidation of 3-phospho-D-glycerate by 3-phosphoglycerate dehydrogenase (E.C.1.1.1.95) at the expense of NAD⁺ yielding 3-phosphohydroxy pyruvate which in turn undergoes transamination followed by hydrolysis. The enzyme 3-phosphoglycerate dehydrogenase involved in the above reaction is more stable and available in the haemolymph. Therefore, the biochemical estimation of the enzyme in the haemolymph sample at the appropriate stages of development will enable the rate of free amino acid metabolism to be understood and in turn serve as a convenient index to understand the synthesis of silk proteins in *Bombyx mori*. In the present studies an attempt is made to analyse the specific activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase and to correlate it with silk productivity in the two isolated bivoltine lines, i.e., MU₇₁₆ and MU₇₁₈, and in the control races. The higher viability of the newly evolved bivoltine lines compared to the control races and the similarities in specific activity of the said enzyme in the isolated lines and control races are herein discussed.*

Keywords: Silkworm, *Bombyx*, enzyme, specific activity, 3-phosphoglycerate dehydrogenase, viability.

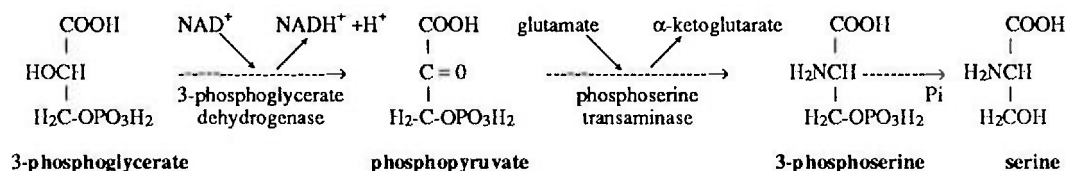
INTRODUCTION

In insects, development of different organs may be faster or slower than the general growth rate of the body as a whole (Mathur *et al.*, 1989). The variable growth rate of the organs is clearly reflected during development and differentiation in the silkworm, *Bombyx mori*. Differential growth varies depending upon the genetic endowment of the race apart from the quality and quantity of the food intake and climatic conditions. For instance, the rate of development of the silk gland is much faster during the fifth instar compared to other organs; they attain the maximum size on the fifth day of the V instar and occupy most of the body cavity. Simultaneously, the cellular structures of the silk gland also differentiate and prepare themselves for the synthesis of silk proteins by utilizing the free amino acids present in the haemolymph, as pointed out by Tashira *et al.* (1968), Majima *et al.* (1975), Horie *et al.* (1978) and Mathur *et al.* (1989). The important amino acids which take part in the biosynthesis of silk have been determined to be glycine, alanine, tyrosine and serine which are present in the haemolymph in variable proportions.

Of the two components (fibroin and sericin) of silk protein, the fibroin constituting the core of the silk fibre contains 44.52% glycine, 29.3% alanine, 12.1% serine and 5.2% tyrosine (Fukuda *et al.*,

1955; Leucas *et al.*, 1957). Most of the amino acids' requirements for the biosynthesis of silk are served by the fat bodies through the haemolymph which plays an important role in transportation and maintains a delicate equilibrium of free amino acids during the metabolic activities (Wyatt, 1961; Fukuda *et al.*, 1975).

Of the four important amino acids taking part in the synthesis of silk, the biochemical pathway of serine, glycine and alanine is different from that of tyrosine. Glycine, a major constituent of fibroin, is derived from serine by transhydroxy methylase activity (Kawasaki, 1968, 1969). Serine, which forms a precursor for the synthesis of glycine, is synthesized by the oxidation of 3-phospho-D-glycerate (an intermediate of glycolysis) by 3-phospho-glycerate dehydrogenase enzyme (E.C.1.1.1.95) at the expense of NAD^+ yielding 3-phosphohydroxy pyruvate which in turn undergoes transamination followed by hydrolysis (Koide and Shimura, 1962), as indicated in the stepwise biochemical pathway.



The enzyme 3-phosphoglycerate dehydrogenase involved in the above reaction is more stable and available in the haemolymph. Therefore, the biochemical estimation of the enzyme in the haemolymph sample at the appropriate stages of development will throw light on the rate of free amino acid metabolism and in turn serve as a convenient index to understand how the silk gland is provided with appropriate materials for the synthesis of silk proteins in *B. mori* (Zhukova *et al.*, 1975; Horie and Shinbo, 1985). An attempt is made here to analyse the specific activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase enzyme and to correlate it with silk productivity in the evolved bivoltine lines of the silkworm, MU₇₁₆ and MU₇₁₈, and the control races.

MATERIALS AND METHODS

The tropical multivoltine race *C. nichii* and the bivoltine races Kalimpong-A (KA), NB₇, NB₁₈ and NB_{4D2} as well as the evolved lines MU₇₁₆ and MU₇₁₈ were chosen for the present investigation. The performance of these races was analysed by employing the rearing technique described by Krishnaswami *et al.* (1978).

Haemolymph samples of 5-6 ml were collected from 25 individuals each of two developmental stages, i.e., V instar fifth day larvae and pharate pupae, in sterilized vials containing a pinch of thiourea. The samples thus collected were centrifuged (2500 rpm for 6 minutes) and the aliquots of supernatant were used to estimate the activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase enzyme by employing the spectrophotometric method described by Sallach (1966). Sodium salt of 3-phosphoglyceric acid ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_7\text{PNa}_3$) was used as substrate.

Reagents used:

- i. 3-phosphoglyceric acid (3-PGA), sodium salt, 0.1 M, pH 7.0 (Sigma: Lot. No. 65F-7210).
- ii. Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), 0.015 M (SRL).
- iii. Glutathione, 0.05 M, adjusted to pH 6 with 1N KOH (SRL).
- iv. Stock buffer solution: by mixing 5 volumes of 1.0 M tris-chloride (pH 9.0), 4 volumes of 1.0 M hydrazine acetate (pH 9.0) and 1 volume of 0.25 M EDTA (pH 9.0) on the day of use.
- v. Haemolymph sample (enzyme extract): prior to assay the haemolymph was diluted in 0.01 M phosphate buffer (pH 6), so that 0.1 ml will contain approximately 20 units.

Procedure:

One ml of the buffer solution, 0.1 ml of glutathione, 0.25 ml of 3-PGA (omitted from the control and blank) and 0.1 ml of enzyme extract (haemolymph) were taken in test tubes and the volume made up to 2.15 ml with distilled water. This reaction mixture was placed in each of the 3 quartz cells with 1 cm light path. The reaction was initiated by the addition of NAD^+ (replaced by distilled water in blank) and the readings were taken at 340 nm at 1 minute interval for five minutes against the blank.

In addition, the total protein content of the respective haemolymph samples were estimated by employing Lowry's method (Lowry *et al.*, 1951). The change in optical density and total protein content of haemolymph samples was used to calculate the specific activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase in the respective races. One unit of haemolymph (enzyme extract) is defined as that amount which causes an initial rate of change in absorbance (340 nm) of 0.001 OD per minute under the above conditions. The specific activity is expressed as units per milligram of protein, as determined by Lowry's method.

RESULTS

The data pertaining to the rearing performance of the evolved lines, MU₇₁₆ and MU₇₁₈, as well as their control races with regard to productivity traits, i.e., cocoon weight, shell weight and cocoon shell percentage, are presented in Table I. Comparison of the data reveals that the multivoltine parental race *C. nichi* is less productive with a shell percentage of 13.1 than the other bivoltine parental races and the evolved lines which exhibit a cocoon shell percentage ranging from 18 to 20.4%. The total protein content in the haemolymph samples of V instar fifth day larvae and pharate pupae of all the control races and the isolated bivoltine lines was found to exhibit a higher concentration at both stages

Table I. Mean values of cocoon characters of the evolved lines and controls.

Tableau I. Valeurs moyennes des caractères du cocon chez les lignées isolées et chez les témoins.

Sl. no.	Races/ New lines*	Single cocoon weight (g)	Single shell weight (g)	Cocoon shell percentage
<i>N° de série</i>	<i>Races/ Nouvelles lignées*</i>	<i>Poids d'un cocon (g)</i>	<i>Poids d'une coque (g)</i>	<i>Richesse soyeuse (%)</i>
1	<i>C. nichi</i>	0.897 ± 0.046	0.114 ± 0.209	13.118 ± 0.076
2	Kalimpong-A	1.785 ± 0.103	0.347 ± 0.156	19.450 ± 0.183
3	NB ₇	1.940 ± 1.026	0.389 ± 1.180	20.065 ± 0.237
4	NB ₄ D ₂	1.922 ± 1.680	0.390 ± 1.003	20.326 ± 0.418
5	NB ₁₈	1.806 ± 1.310	0.352 ± 0.724	19.490 ± 1.006
6	MU ₇₁₆ *	1.652 ± 0.041	0.301 ± 0.236	18.220 ± 0.293**
7	MU ₇₁₈ *	1.628 ± 0.073	0.295 ± 0.495	18.116 ± 0.331**

** Insignificant ($p > 0.05$) / Non significatif ($p > 0,05$).

of development. The data obtained on the total protein concentration and the calculated specific activity of the enzyme 3-phosphoglycerate dehydrogenase (3-PGD) along with the cocoon shell percentage of all the races under study are presented in Table II. The specific activity of 3-PGD in isolated lines and controls is graphically represented in Figure 1. It is evident from the data that both the isolated lines and the bivoltine parental races including NB18 show a higher specific activity of this enzyme than the tropical multivoltine race *C. nichii*, which corresponds with their respective cocoon shell percentage. However, the observations reveal similarities in the specific activity of the said enzyme among the isolated lines and their bivoltine parent races. In addition, the specific activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase recorded in the two developmental stages was observed to differ considerably, showing a higher activity in the samples collected from V instar fifth day larvae than from pharate pupae. Further, the specific activity of the said enzyme in *C. nichii* at V instar fifth day was 53.51 units/mg/min. and at pharate pupal stage it was 20.10 units/mg/min.

Table II. Mean values of haemolymph total protein content and specific activity of the enzyme 3-phosphoglycerate dehydrogenase at two stages of development in the evolved lines and controls as well as their respective cocoon shell percentage.

Tableau II. Valeurs moyennes du contenu total en protéines de l'hémolymph et de l'activité spécifique de l'enzyme 3-phosphoglycerate déshydrogénase à deux stades du développement chez les lignées isolées et chez les témoins ainsi que les richesses soyeuses respectives.

Sl. no.	Races/ New lines*	Cocoon shell percentage	Total protein (mg/ml)		Specific activity (units/mg/min.)	
			V instar 5th day	Pharate pupae	V instar 5th day	Pharate pupae
N° de série	Races/ Nouvelles lignées*	Richesse soyeuse (%)	Protéines totales (mg/ml)		Activité spécifique (unités/mg/minute)	
			5e jour du 5e âge	Préimago	5e jour du 5e âge	Préimago
1	<i>C. nichii</i>	13.118 ± 0.076	56.29 ± 0.108	72.82 ± 0.340	53.51 ± 0.297	20.10 ± 0.146
2	Kalimpong-A	19.450 ± 0.183	51.83 ± 0.213	58.26 ± 0.297	105.26 ± 0.593	39.21 ± 0.293
3	NB7	20.065 ± 0.237	52.72 ± 1.004	73.61 ± 0.183	95.06 ± 0.604	36.68 ± 0.401
4	NB4D2	20.326 ± 0.418	53.84 ± 0.312	83.53 ± 0.410	104.32 ± 0.378	43.18 ± 0.329
5	NB18	19.490 ± 1.006	54.91 ± 0.206	72.16 ± 0.551	109.46 ± 0.461	41.25 ± 0.217
6	MU716*	18.220 ± 0.293	53.41 ± 0.319	71.92 ± 0.394***	96.80 ± 0.196**	29.97 ± 0.192
7	MU718*	18.116 ± 0.331	50.72 ± 0.425	79.50 ± 0.287	107.15 ± 0.271**	34.28 ± 0.229

** Significant ($p < 0.05$) / *Significatif* ($p < 0,05$).

*** Significant ($p < 0.01$) / *Significatif* ($p < 0,01$).

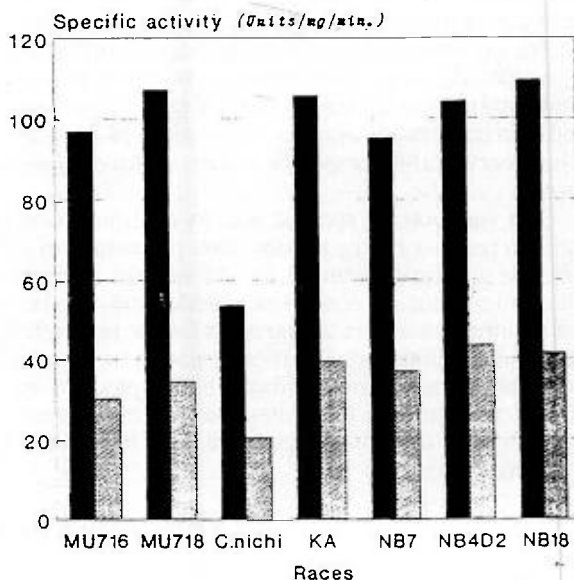
DISCUSSION

Various aspects of protein metabolism such as patterns of free amino acids' pools, intermediary pathways of individual amino acids and their derivatives, qualitative and quantitative changes in haemolymph proteins as well as the synthesis and metabolic activity of specific enzymes in insect development have attracted the interest of many biochemists during the recent past. It is now well established that the haemolymph in insects takes part in several anabolic and catabolic activities such as protein synthesis, osmoregulation, excretion, energy production, cocoon spinning, besides its significant role in regulating the various metabolic requirements by different tissues during growth and development (Buck, 1953; Wyatt, 1961; Inokuchi and Ito, 1973; Nakayama, 1986; Dordea *et al.*, 1987; Sinha *et al.*, 1988). Insects are known to regulate the delicate balance of free amino acids in the haemolymph depending on their stage of development (Wyatt, 1961; Chen, 1962; Corrigan, 1970; Anonymous, 1975). In view of this, in the silkworm, *Bombyx mori*, in addition to their participation in the synthesis of silk there are wide fluctuations in the free amino acids' content of the haemolymph before and after spinning.

Fig. 1: Mean values of the specific activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase at two stages of development in the evolved races and controls.

Fig. 1 : Valeurs moyennes de l'activité spécifique de la 3-phosphoglycérate déshydrogénase à deux stades du développement chez les deux races améliorées et chez les témoins.

■ In V instar 5th day larvae / Chez les larves au 5e jour du 5e âge.
 ▨ In pharate pupae / Chez les préimagos.



The silkworm requires altogether eighteen amino acids (ten essential, five non-essential, one semi-essential and two acidic) for its normal growth and development. Among the five non-essential amino acids, glycine, alanine and serine in the ratio of 3:2:1, constituting nearly 60% of the silk proteins, form the crystalline fraction of fibroin. Further, these three amino acids are interconvertible and synthesized rapidly from aspartate or glutamate by transamination and are grouped into one category. The significant enhancement in the acceptor tRNAs of glycine, alanine and serine in the cells of posterior and middle silk gland up to the V instar 5th day, the day at which the maximum activity is seen, reveals the clear-cut evidence of this requirement in the biosynthesis of silk protein (Ejiri *et al.*, 1972; Majima *et al.*, 1975; Rajanna and Reddy, 1988). Since the synthesis of these three non-essential amino acids depends on the activity of the enzyme 3-phosphoglycerate dehydrogenase (3-PGA), it is reasonable to quantify and correlate the specific activity of this enzyme with silk

productivity of various silkworm races with divergent genetic endowment. The increased specific activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase in all the haemolymph samples collected at V instar fifth day indicates the enhanced rate of metabolism of the said non-essential free amino acids. The significant reduction in the activity of the said enzyme at the pharate pupal stage can be attributed to the decreased rate of metabolism of these free amino acids as they are not required in such abundance during the process of pupation (Table II). The stage-specific activity of this enzyme at two different stages of development as observed in the present study can be attributed to the indirect evidence for the variations in the free amino acid content during and after the biosynthesis of silk and supports the findings of Florkin *et al.* (1949) and Rajanna and Reddy (1988). Besides, Wyatt (1961), Chen and Levenbook (1966), Sinha *et al.* (1985) and Jones *et al.* (1987) have also clearly demonstrated the fluctuations in the 3-PGD activity, total proteins and non-protein bodies in the haemolymph of several insects during different stages of development.

Many lepidopteran insects, including *B. mori*, have shown an increment in protein concentration in the silk gland during the larval stage of the life cycle (Radha and Sharma, 1968; Geest and Borgsteede, 1969; Chippendale and Kilby, 1969; Gamo and Ohtsuki, 1980; Horie and Shinbo, 1985; Seo *et al.*, 1985; Seo and Kim, 1986; Mathur *et al.*, 1989). The higher concentration of the haemolymph proteins in the new line and bivoltine parents as compared to *C. nichii* at both fifth instar and pharate pupal stages of development (Table II and Fig. 1) as revealed by the present investigation can be attributed to the higher activity of protein synthesis in the fat body and subsequent release into the haemolymph. This supports the findings of Shigematsu (1960). The increased specific activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase recorded in the isolated lines and their bivoltine parents as compared to the multivoltine *C. nichii* can be correlated with their respective cocoon shell percentages and is in conformity with the observations of Zhukova *et al.* (1975) and Rajanna and Reddy (1988), who observed a higher specific activity of this enzyme in more productive races than in less productive races.

The variations in specific activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase observed in silkworm races depending on the cocoon shell percentage of the races under study can be attributed to their inherent genetic differences. In addition, the stage-specific activity of the said enzyme observed in the evolved lines and control races under study can be attributed to the differential gene action to meet the requirement of free amino acids for the biosynthesis of silk and other metabolites at appropriate stages of development. The present studies on the specific activity of 3-PGD in the evolved lines and their control races clearly indicate higher productivity in the evolved lines than in *C. nichii* which is almost on a par with their bivoltine control races and shown to be better than the control bivoltine races in view of their higher viability as measured in terms of pupation rate and cocoon yield by number.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are highly indebted to the University of Mysore, Mysore, for all the facilities provided and one of the authors (VGM) expresses his gratitude to the University Grant Commission, New Delhi, for the financial support.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1975) Textbook of Tropical Sericulture. Japan.
 BUCK J.B. (1953) Physical properties and chemical composition of insect blood. *In* Insect Physiology. (Ed.: K.D. Reeder) John Wiley, New York, pp. 147-190.
 CHEN P.S. (1962) Free amino acids in insects. *In* Amino Acid Pools. (Ed.: J.T. Holden) Elsevier, Amsterdam, pp. 115-138.
 CHEN P.S., LEVENBOOK L. (1966) Studies on the haemolymph proteins of *Ostrinia nubilalis* during diapause and pre-pupal differentiation. *J. Insect Physiol.*, 12, 16-29.
 CHIPPENDALE G.M., KILBY B.A. (1969) Relationship between the proteins of the hemolymph and fat body during development of *Pieris brassicae*. *J. Insect Physiol.*, 905-926.

- CORRIGAN T.J. (1970) *In* Comparative Biochemistry of Nitrogen Metabolism. Vol. I, (Ed.: J.W. Campbell), Academic Press, New York.
- DORDEA, MANUCLA, FLOCA L., PERSECA T. (1987) Variation of the content of free amino acids in Eri silkworm (*P. ricini*) pupae during diapause as influenced by the treatment of larvae with ketrof. Bolayi. Biol., 32(2), 56-59.
- EJIRI S., TAIRA H., SHIMURA K. (1972) Gounosine triphosphate dependent enzymatic binding of aminoacyl transfer ribonucleic acid to silk gland ribosomes. J. Biochem., 72(2), 403-409.
- FLORKIN M., MORGULIS S. (1949) Biochemical evolution. Academic Press, New York.
- FUKUDA T. (1960) The correlation between the mulberry leaves taken by the silkworm, the silk protein in the silk gland and silk filament. Bull. Sericult. Exp. Sta., 15(10), 605-610.
- HORIE Y., INOKUCHI, WATANABE K. (1978) Quantitative study of food utilization by the silkworm, *Bombyx mori*, through its life cycle. II. Economy of nitrogen and amino acids. Bull. Sericult. Exp. Sta., 27(5), 571-578.
- HORIE Y., SHINBO H. (1985) Practical purification and properties of 3-phosphoglycerate dehydrogenase in the fat body tissue of larvae of silkworm, *Bombyx mori*. Appl. Entomol. Zool., 20(3), 282-284.
- JONES L.P., FRANKHAM R., BARKER J.S.F. (1968) The effects of population size and selection intensity in selection for quantitative characters in drosophila. II. Long-term response to selection. Genet. Res., 12, 249-266.
- KOIDE F., SHIMURA K. (1962) 3-phosphoglyceric acid dehydrogenase from the silk gland. J. Biochem., 52(4), 302-303.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.I. (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- MAJIMA R., KAWAKAMI M., SHIMURA K. (1975) Increase of amino acid acceptor activity of specific t-RNA utilized for silk protein synthesis in the silk gland of *Bombyx mori*. J. Biochem., 78(2), 391-400.
- MARIBASHETTY V.G., SREERAMA REDDY G. (1991) Synthesis of a superior bivoltine breed of silkworm, *Bombyx mori* (L.), for tropics by selective hybridization. Proc. 10th Nat. Symp. on Life Sci., Mysore, India, 26-28 Sept.
- MATHUR S.K., ROY A.K., SEN S.K., SUBBA RAO G. (1989) Studies on the growth of silkworm, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), under tropical conditions. Indian J. Seric., 28(1), 71-79.
- NAKAYAMA T. (1986) Change in osmotic pressure of the haemolymph during development in the silkworm, *Bombyx mori*. Zool. Sci. (Tokyo), 3(6), 1021.
- RADHA P., SHARMA S.C. (1968) Biochemical studies on pupal tissues of *Philosamia ricini*. Variations in nitrogenous compound and carbohydrate content during development. Indian J. Biochem., 5, 69-70.
- RAJANNA G.S., SREERAMA REDDY (1988) Studies on the dependency of silk productivity on the activity of 3-phosphoglycerate dehydrogenase in the silkworm, *Bombyx mori*. Proc. Int. Cong. Trop. Seric., Bangalore, India, 18-23 Feb.
- SALLACH H.J. (1966) *In* Methods in Enzymology: Carbohydrate Metabolism. (Ed.: W.A. Wood), 9, 216. Academic Press, New York.
- SEO E.W., KIM H.R. (1985) A study on the protein pattern of hemolymph during last instar larval and pupal stages of distribution of storage proteins during the metamorphosis of *Bombyx mori* L. Korean J. Zool., 29(1), 1-12.
- SHIGEMATSU H. (1960) Protein metabolism in the fat body of the silkworm, *Bombyx mori* L. Bull. Sericult. Exp. Sta., 16, 165-170.
- SINHA A.K., CHAUDHRY S.K., SENGUPTA K. (1988) Changes in free amino acids in the larval and pupal hemolymph of *Antheraea mylitta* Drury reared on *Terminalia arjuna* and *T. tomentosa* A. & W. Indian J. Seric., 27(2), 95-108.
- WYATT G.R. (1961) The biochemistry of insect hemolymph. Ann. Rev. Entomol., 6, 75-102.
- ZHUKOVA N.I., KLUNOVA S.M., PILLIPOVICH, YU B., NUMANOV M.I. (1975) Activity of amino acid metabolism enzymes in tissues and organs of silkworms of different productivity. Biol. Nauki. (Moscow), 18(12), 113-116.

ETUDE DE L'ACTIVITE SPECIFIQUE DE LA 3-PHOSPHOGLYCERATE DESHYDROGENASE CHEZ LES RACES BIVOLTINES AMELIOREES MU₇₁₆ ET MU₇₁₈ DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

V.G. MARIBASHETTY¹ & G. SREERAMA REDDY²

1. Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore - 560 062, Inde.
2. Department of Sericulture, University of Mysore, Manasagangotri, Mysore - 570 006, Inde.

*Les acides aminés importants impliqués dans la biosynthèse de la soie sont la glycine, l'alanine, la tyrosine et la sérine et sont présents dans l'hémolymphe dans des concentrations variables. Parmi ces quatre acides aminés, la voie biochimique de la sérine, de la glycine et de l'alanine diffère de celle de la tyrosine. La glycine, composant majeur de la fibroïne, est dérivée de la sérine par l'activité de la transhydroxy méthylase. La sérine, qui constitue un précurseur pour la synthèse de la glycine, est synthétisée par l'oxydation du 3-phospho-D-glycérate par la 3-phosphoglycérate déshydrogénase (E.C.1.1.1.95) qui utilise la NAD⁺ donnant le 3-phosphohydroxy pyruvate qui, à son tour, subit une transamination puis une hydrolyse. L'enzyme 3-phosphoglycérate déshydrogénase, qui est impliquée dans l'action décrite ci-dessus, est plus stable et se trouve dans l'hémolymphe. Le dosage biochimique de l'enzyme dans l'échantillon d'hémolymphe aux stades appropriés du développement permettra donc de comprendre le taux de métabolisme des acides aminés libres et constituera un indice utile pour élucider la synthèse des protéines de la soie chez *Bombyx mori*. Dans cette étude, nous avons tenté d'analyser l'activité spécifique de la 3-phosphoglycérate déshydrogénase et de corrélérer cette activité avec la productivité de soie chez deux lignées évoluées, MU₇₁₆ et MU₇₁₈, et chez des races témoins. La viabilité supérieure des races améliorées par rapport aux races témoins et la similarité de l'activité spécifique de cette enzyme chez ces races et chez les témoins sont discutées.*

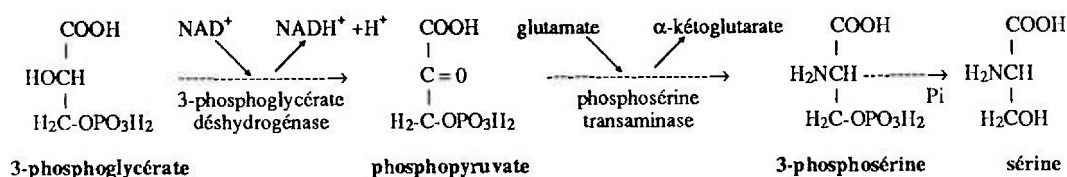
INTRODUCTION

Chez les insectes, le développement des différents organes peut être plus rapide ou plus lent que le taux de croissance général de l'ensemble du corps (Mathur et coll., 1989). La variabilité du taux de croissance apparaît clairement au cours du développement et de la différenciation chez le ver à soie *Bombyx mori*. La croissance varie non seulement en fonction de la qualité et de la quantité de nourriture ingérée et des conditions climatiques, mais également en fonction des particularités génétiques d'une race. Par exemple, le taux de croissance de la glande séricigène est beaucoup plus rapide que celui des autres organes au cinquième âge : elle atteint sa taille maximale au cinquième jour du cinquième âge et occupe presque la totalité de l'intérieur du corps. Parallèlement, les structures cellulaires de la glande séricigène se différencient et se préparent pour la synthèse des protéines de la soie en utilisant les acides aminés libres présents dans l'hémolymphe, comme l'ont démontré Tashira et coll. (1968), Majima et coll. (1975), Horie et coll. (1978) et Mathur et coll. (1989). Les acides aminés importants qui participent à la biosynthèse de la soie sont la glycine, l'alanine, la tyrosine et la sérine qui sont présentes dans l'hémolymphe en quantités variables.

Parmi les deux composants (fibroïne et séricine) des protéines de la soie, la fibroïne, qui constitue la base de la fibre de soie, contient 44,52 % de glycine, 29,3 % d'alanine, 12,1 % de sérine et 5,2 % de tyrosine (Fukuda et coll., 1955 ; Lucas et coll., 1957). La majeure partie des besoins en acides aminés pour la biosynthèse de la soie sont couverts par le corps adipeux par l'intermédiaire de l'hémolymphe

qui joue un rôle important dans le transport et permet de maintenir l'équilibre fragile entre les acides aminés au cours des activités métaboliques (Wyatt, 1961 ; Fukuda et coll., 1975).

Sur les quatre acides aminés importants participant à la synthèse de la soie, la voie biochimique de la sérine, de la glycine et de l'alanine est différente de celle de la tyrosine. La glycine, composant majeur de la fibroïne, est dérivée de la sérine par l'activité transhydroxy méthylase (Kawasaki, 1968, 1969). La sérine, qui forme le précurseur pour la synthèse de la glycine, est synthétisée par l'oxydation du 3-phospho-D-glycérate (un intermédiaire de la glycolyse) par l'enzyme 3-phosphoglycérate-déshydrogénase (E.C.1.1.1.95) en utilisant la NAD^+ qui produit le 3-phosphohydroxy pyruvate qui subit ensuite une transamination puis une hydrolyse (Koide et Shimura, 1962), comme le montre le schéma de la réaction biochimique présenté ci-dessous :



L'enzyme 3-phosphoglycérate-déshydrogénase impliquée dans cette réaction est plus stable et se trouve dans l'hémolymphe. L'estimation biochimique de cette enzyme dans un échantillon d'hémolymphe aux stades appropriés du développement permettra d'élucider le taux du métabolisme des acides aminés et, ainsi, constituera un indice pratique pour comprendre le mécanisme par lequel la glande séricigène est alimentée en substances appropriées pour la synthèse des protéines de la soie chez *B. mori* (Zhukova et coll., 1975 ; Horie et Shinbo, 1985). Nous tentons ici d'analyser l'activité spécifique de l'enzyme 3-phosphoglycérate déshydrogénase et de corrélérer cette activité avec la productivité en soie chez les lignées améliorées MU716 et MU718 et chez des races témoins de ver à soie.

MATERIELS ET METHODES

La race tropicale polyvoltine *C. nichii* et les races bivoltines Kalimpong-A (KA), NB7, NB18 et NB4D2 ainsi que les lignées améliorées MU716 et MU718 ont été choisies pour cette étude. La performance de ces races est analysée d'après la technique d'élevage décrite par Krishnaswami et coll. (1978).

Des échantillons d'hémolymphe de 5 à 6 ml ont été prélevés sur 25 individus à chacun des deux stades du développement considérés : cinquième jour du cinquième âge et stade pré-imaginal, et déposés dans des flacons stérilisés contenant une pincée de thiourée. Les échantillons ainsi prélevés ont été centrifugés (2 500 tours/minute pendant 6 minutes) et les aliquotes de surnageants ont été utilisées pour évaluer l'activité 3-phosphoglycérate déshydrogénase en employant la méthode spectrophométrique décrite par Sallach (1966). Du sel de sodium d'acide 3-phosphoglycérique ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_7\text{PNa}_3$) a été utilisé comme substrat.

Réactifs utilisés :

- Acide 3-phosphoglycérique (3-PGA), sel de sodium, 0,1 M, pH 7,0 (Sigma : Lot n° 65F-7210).
- Dinucléotide adénine nicotinamide (NAD), 0,015 M (SRL).
- Glutathion, 0,05 M, ajusté à pH 6 avec 1N KOH (SRL).
- Solution de tampon mère : par mélange de 5 volumes de tris-chlorure 1,0 M (pH 9,0), de 4 volumes de acétate d'hydrazine 1,0 M (pH 9,0) et de 1 volume d'EDTA 0,25 M (pH 9,0) le jour de l'utilisation.
- Echantillon d'hémolymphe (extrait d'enzyme) : avant dosage, l'hémolymphe est diluée dans un tampon phosphate 0,01 M (pH 6), de sorte que 0,1 ml contient environ 20 unités.

Protocole :

Un ml de la solution tampon, 0,1 ml de glutathion, 0,25 ml de 3-PGA (omis chez les témoins et les blancs) et 0,1 ml d'extrait enzymatique (hémolymphe) ont été versés dans les éprouvettes et le volume a été porté à 2,15 ml avec de l'eau distillée. Ce mélange réactif a été déposé dans chacune des trois cuves de quartz à 1 cm de trajet lumineux. La réaction a été déclenchée par addition de NAD^+ (remplacé par de l'eau distillée chez les blancs) et les mesures ont été effectuées à 340 nm par comparaison avec les blancs à intervalles d'une minute pendant cinq minutes.

Par ailleurs, les contenus totaux en protéines des échantillons respectifs d'hémolymphe ont été estimés d'après la méthode de Lowry (Lowry et coll., 1951). Les variations des mesures densitométriques et du contenu total en protéines des échantillons d'hémolymphe ont été utilisées pour calculer l'activité spécifique de la 3-phosphoglycérate déshydrogénase chez les races considérées. Une unité d'hémolymphe (extrait enzymatique) est définie comme la quantité provoquant un taux initial de variation d'absorbance (340 nm) de 0,001 de densité optique par minute dans les conditions décrites ci-dessus. L'activité spécifique est exprimée en unités par milligramme de protéines.

RESULTATS

Les données portant sur la performance d'élevage des lignées améliorées MU716 et MU718, ainsi que sur celle des races témoins pour ce qui concerne les caractères de productivité (poids du cocon, poids de la coque et richesse soyeuse), sont présentées dans le tableau I. La comparaison des données révèle que la race parentale polyvoltine C. nichii est moins productive, avec une richesse soyeuse de 13,1, que les autres races parentales bivoltines et que les lignées améliorées, qui présentent une richesse soyeuse située entre 18 et 20,4 %. La concentration en protéines des échantillons d'hémolymphe prélevés sur des larves au cinquième jour du cinquième âge et sur des pré-imagos chez toutes les races témoins et chez les lignées améliorées est plus élevée aux deux stades du développement considérés. Les données obtenues pour la concentration totale en protéines et l'activité spécifique estimée de la 3-phosphoglycérate déshydrogénase (3-PDG) ainsi que pour la richesse soyeuse des races étudiées sont présentées dans le tableau II. L'activité spécifique de la 3-PDG chez les lignées améliorées et chez les témoins est représentée schématiquement dans la figure 1. Les données montrent clairement que les lignées améliorées et les races parentales bivoltines, y compris NB18, présentent une activité spécifique plus élevée de cette enzyme que la race polyvoltine tropicale C. nichii ; ce qui correspond à leur richesse soyeuse. Cependant, nos observations font apparaître des ressemblances d'activité spécifique de la 3-phosphoglycérate déshydrogénase entre les lignées améliorées et leurs races parentales bivoltines. De plus, l'activité spécifique de la 3-phosphoglycérate relevée aux deux stades du développement étudiés varie fortement et présente une activité plus importante chez les échantillons prélevés sur les larves au cinquième jour du cinquième âge que chez les pré-imagos. L'activité spécifique de cette enzyme chez C. nichii est de 53,51 unités/mg/minute au cinquième jour du cinquième âge et de 20,10 unités/mg/minute au stade pré-imaginal.

DISCUSSION

Divers aspects du métabolisme protéique comme les profils des pools d'acides aminés, les voies métaboliques intermédiaires de chacun des acides aminés et de leurs dérivés, les variations qualitatives et quantitatives des protéines de l'hémolymphe ainsi que la synthèse et l'activité métabolique d'enzymes spécifiques au cours du développement de l'insecte, ont récemment été étudiés par de nombreux chercheurs. Il est maintenant bien établi que, chez les insectes, l'hémolymphe participe à plusieurs activités anaboliques et cataboliques telles que la synthèse des protéines, l'osmorégulation, l'excrétion, la production d'énergie, le filage du cocon, outre son rôle significatif dans la régulation des divers besoins métaboliques de différents tissus au cours de la croissance et du développement (Buck, 1953 ; Wyatt, 1961 ; Inokuchi et Ito, 1973 ; Nakayama, 1986 ; Dordca et coll., 1987 ; Sinha et coll., 1988). On sait que les insectes régulent l'équilibre fragile des acides aminés libres dans l'hémolymphe en fonction de leur stade de développement (Wyatt, 1961 ; Chen, 1962 ; Corrigan, 1970 ; Anonyme, 1975). De ce fait, chez le ver à soie *Bombyx mori*, les acides aminés libres, qui

participent à la synthèse de la soie, présentent des fluctuations importantes de leurs teneurs dans l'hémolymphe avant et après le filage.

Il faut en tout dix-huit acides aminés (dix essentiels, cinq non essentiels, un semi-essentiel et deux acides) pour que le ver à soie ait une croissance et un développement normal. Parmi les cinq acides aminés non essentiels, la glycine, l'alanine et la sérine dans un rapport de 3:2:1, soit près de 60 % des protéines de la soie, forment la fraction cristalline de la fibroïne. Ces trois acides aminés sont interchangeable et se synthétisent rapidement à partir de l'aspartate ou du glutamate par transamination et sont regroupés dans une même catégorie. L'augmentation significative des ARNt accepteurs de glycine, d'alanine et de sérine dans les cellules du sécréteur et du réservoir jusqu'au cinquième jour du cinquième âge, jour de l'activité maximale, démontre clairement qu'ils sont indispensables à la biosynthèse des protéines de soie (Ejiri et coll., 1972 ; Majima et coll., 1975 ; Rajanna et Reddy, 1988). La synthèse de ces trois acides aminés non essentiels étant fonction de l'activité 3-phosphoglycérate déshydrogénase (3-PGA), on peut raisonnablement quantifier et corréler l'activité spécifique de cette enzyme avec la productivité de soie chez des races de ver à soie présentant des capitaux génétiques différents. L'augmentation de l'activité spécifique de la 3-phosphoglycérate déshydrogénase chez tous les échantillons d'hémolymphe prélevés au cinquième jour du cinquième âge indique un accroissement du taux de métabolisme de ces acides aminés non essentiels. La diminution significative de l'activité de l'enzyme au stade pré-imaginal peut être attribuée à la diminution du métabolisme de ces acides aminés libres car ils ne sont plus nécessaires en de telles quantités pendant le processus de nymphose (Tableau II). L'activité, spécifique du stade, de cette enzyme à deux stades du développement, comme il a été observé dans cette étude, peut être attribuée aux variations, mises en évidence indirectement, du contenu en acides aminés libres pendant et après la biosynthèse de la soie ; ceci corrobore les résultats de Florkin et coll. (1949) et Rajanna et Reddy (1988). En outre, Wyatt (1961), Chen et Levenbook (1966), Sinha et coll. (1985) et Jones et coll. (1987) ont également clairement démontré les fluctuations de l'activité 3-PGD, des protéines totales et des corps non protéiques dans l'hémolymphe de plusieurs insectes à différents stades du développement.

De nombreux lépidoptères, y compris *B. mori*, présentent un accroissement de la concentration en protéines dans la glande séricigène au cours du stade larvaire (Radha et Sharma, 1968 ; Geest et Borgsteede, 1969 ; Chippendale et Kilby, 1969 ; Gamo et Ohtsuki, 1980 ; Horie et Shinbo, 1985 ; Seo et coll., 1985 ; Seo et Kim, 1986 ; Mathur et coll., 1989). Le fait que la concentration soit plus élevée en protéines dans l'hémolymphe chez la nouvelle lignée et chez les parents bivoltins que chez *C. nichii* au cinquième âge et au stade pré-imaginal (Tableau II et Fig. 1), comme mis en évidence dans cette étude, peut être attribué à l'augmentation de l'activité de synthèse des protéines dans le corps adipeux et à leur libération subséquente dans l'hémolymphe. Ceci corrobore les résultats de Shigematsu (1960). L'augmentation de l'activité spécifique de la 3-phosphoglycérate observée chez les lignées améliorées et chez leurs parents bivoltins par rapport à la race polyvoltine *C. nichii* peut être mise en corrélation avec leurs richesses soyeuses respectives et est conforme aux observations de Zhukova et coll. (1975) et Rajanna et Reddy (1988) qui ont observé que l'activité spécifique de cette enzyme était plus élevée chez les races productives que chez les races peu productives.

Les variations de l'activité spécifique 3-phosphoglycérate déshydrogénase observées chez les races de ver à soie considérées suivant leur richesse soyeuse peuvent être attribuées à leurs différences génétiques intrinsèques. De plus, le fait que l'activité de cette enzyme soit spécifique du stade chez les lignées améliorées et chez les races témoins étudiées peut être attribué à des différences d'actions des gènes qui répondent au besoins en acide aminés libres pour la biosynthèse de la soie et d'autres métabolites aux stades correspondants du développement. Cette étude de l'activité spécifique 3-PGD chez les lignées améliorées et chez les races témoins indique clairement que la productivité est plus élevée chez les lignées améliorées que chez *C. nichii*, avec une productivité comparable à celle des races bivoltines témoins mais avec une viabilité supérieure à celle des races bivoltines témoins en termes de taux de nymphose et de rendement en cocons (nombre).

INFLUENCE OF THE MAGNETIC FIELD ON THE MIDGUT PROTEASE OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* (L.)

A.K. CHOUGALE, G.P. BHAWANE, B.K. PAWAR & N.K. MORE*

Department of Zoology, Shivaji University, Kolhapur - 416 004, India.

*The influence of the magnetic field on the midgut protease in some races of *Bombyx mori* (L.) was investigated during the larval growth and development. A gradual increase in the enzyme activity was witnessed after exposure of the larvae to the magnetic field strength of 0.1 T to 0.35 T, beyond which the activity decreased. The variations obtained in the enzyme activity were significant during the fourth and fifth instars. In the pure races of *Bombyx mori*, the increase in the activity was more pronounced than in the hybrids. The results are discussed.*

Keywords: *Bombyx mori*, magnetic field, midgut protease.

INTRODUCTION

Occurrence of the proteolytic activity in the midgut lumen, epithelium and peritrophic membrane has been indicated (Eguchi and Arai, 1983; Sarangi, 1986) in *Bombyx mori*. A significant protease activity has been demonstrated in the digestive fluid of silkworms (Jadhav and Kallapur, 1988). Iwamoto and Eguchi (1978) have separated three components of it in the silkworm. Further, they have analysed their properties. Eguchi and Iwamoto (1982) have indicated that the midgut protease in silkworms is trypsin-like in nature. The protease in the insect gut lumen is considered to be secreted by the midgut epithelial cells (Kuriyama and Eguchi, 1985). The gut protease in different insects has been amply studied (Espinoza-Fuentes *et al.*, 1984). Its activity depends upon the feeding habit of an insect (Applebaum, 1985), size of the feed (Gooding, 1972) and strain of the silkworm (Sarangi, 1986).

It is known that the late instar larvae digest and utilise the nutritive reserves of mulberry leaves very efficiently. It has been argued by many that there exists a functional differentiation between the digestive fluid and the midgut tissues; i.e., the molecular proteins are hydrolysed into peptides in the digestive fluids and into amino acids with peptidases in the midgut tissues (Jadhav and Kallapur, 1988). During the larval life, the enzyme protease plays an important role in nutrition and influences silk production in the silkworm. Efficient utilisation of the exogenous proteins by the insect larvae during their growth and development is well known. In the silkworm, more than 60% total nitrogen from the mulberry leaves is utilised in the silk synthesis (Ito, 1978).

Exposure of a biological system to the magnetic field induces morphological (Pittman and Anstey, 1967), physiological (Boe and Salunkhe, 1963) and biochemical (Pittman and Ormord, 1970;

* To whom correspondence should be addressed.

Akoyunoglou, 1965; Adus, 1960) changes. Some of the changes in the biological systems, due to different field strengths and duration are presented in the following table:

Sl no.	Reference	Test specimen	Exposure conditions	Results
1	Becker (1979)	Termite	50 Hz, 0.05 μ T in shielded room, exposure several weeks	Stimulation of gallery-building activity
2	Caldwell and Russo (1968)	Honey bee	60 Hz, 2.2-30 mT 10 min. exposures	Altered exploratory behaviour
3	Chiabrea <i>et al.</i> (1979)	Frog embryogenesis	Single bidirectional pulses 40-70 Hz, or 4-kHz bursts of bidirectional pulses with 10-20 Hz repetition rate, 2 mT peak intensity 12 to 24 h exposures	Changes in chromatin structure in the cell nucleus, suggestive of differentiation
4	Kreguer <i>et al.</i> (1972)	Chicken	45 Hz, 0.14 mT and 60 Hz, 0.12 mT, exposure for 1 month	Reduced growth rate in young animals
5	Liboff <i>et al.</i> (1984)	Cultured human fibroblasts	15 Hz-4 kHz, 2.3-560 μ T 16-18 h exposures	Increased DNA synthesis
6	Ramirez <i>et al.</i> (1984)	<i>Drosophila</i> (eggs)	0.5 ms ² wave pulses at 100 Hz, 1.76 mT peak-to-peak intensity; or 50 Hz, 1.41 mT sinusoical field; 2-day exposure	Decreased viability of eggs
7	Tarakhovsky <i>et al.</i> (1971)	Rat	50 Hz, 13-14 mT exposure for 1 month	Changes in serum chemistry, tissue morphology
8	Udinstev and Moroz (1982)	Rat	50 Hz, 20 mT, 6.5 h/day for 7 days	Significant changes in hormone levels

Quantitative changes in the acid phosphatase occurred in the tissues of the mouse and silk glands of the silkworm, *Bombyx mori*, (Conely *et al.*, 1966; Chougale, 1992; Chougale and More, 1993) when the respective animals were exposed to the magnetic field. Changes in the molecular configuration of acid phosphatase, resulting in its increase or decrease depending on the magnetic field strength in the mouse, have been obtained by Young (1969). An increase in the silk gland proteins, resulting in an increased silk yield has been demonstrated (Chougale, 1992). The present paper analyses the influence of the magnetic field strengths on the midgut protease in different races/strains of *B. mori*.

MATERIALS AND METHODS

The pure silkworm strains NB₄D₂ (bivoltine), and PM (multivoltine) and their hybrids (NB₄D₂ × PM and PM × NB₄D₂) were employed during the present investigation. Quality disease-free layings (DFLs) were obtained from the Government Grainage Centre, Gadhinglaj (Dist.

Kolhapur, India) managed and controlled by the Central Silk Board, Bangalore. The eggs were incubated at 25 °C. A relative humidity of 80-85% was maintained during the incubation period. The experimental and control larvae were kept under identical conditions of temperature, humidity and food. The larvae were supplied with mulberry leaves (M5). The rearing method of Krishnaswami *et al.* (1973) was followed.

The larvae of each DFL were divided into two batches. The first served as control and the second batch was further divided into several experimental groups, one for each field strength and for each instar. The larvae were exposed during the first to last instar. The field strengths of 0.1 T, 0.2 T, 0.3 T, 0.35 T, 0.4 T and 0.5 T were selected for the present investigation.

The larvae were exposed to a continuous and homogeneous magnetic field, as per the method devised by Chougale (1992) and Chougale and More (1993), in bulk (separately for a given instar and for a given strength), by keeping them in a perforated plastic container and placing it between the two poles of an axial field electromagnet, EM-50.

The desired field strength was obtained by adjusting the distance between the two poles. It was measured with a digital Gauss meter. The first to fourth instar larvae were separately exposed for 20 min., at an interval of 24 h, during the entire larval duration of each instar. The fifth instar larvae were exposed for 20 min. at an interval of 24 h during the first three days of the last instar. The larvae thus exposed were not exposed again at any stage of their respective remaining development. The midgut protease activity was determined on the fifth day of the fifth instar, irrespective of the stage during which the larvae were exposed to the magnetic field.

From each group (control and experimental), five larvae were randomly selected. Their midgut was dissected out and washed in chilled distilled water to remove the debris. The tissue was weighed and homogenised in a cold tris-hydrochloric acid buffer (pH 8.5) in a chilled glass mortar and Teflon pestle. The homogenates were centrifuged at 5000 rpm at 4 °C. The supernatant was used for the assay of the enzyme.

The protease activity was determined by the method of Brick *et al.* (1962). The modifications made in this method by Ishaaya *et al.* (1971) were followed. A mixture of 0.4 ml 1% casein and 0.2 ml tris-HCl buffer was incubated with 0.2 ml enzyme preparation for 60 min. at 30 °C. The enzyme activity was terminated by adding 2.4 ml trichloroacetic acid to the incubation mixture. The contents of the tube were centrifuged at 5000 rpm. Absorbance of the supernatant was read at 280 µm. For the blank, the enzyme sample was substituted with distilled water. Another sample, whose enzyme source was denatured before addition of the substrate, was also run as a control. The enzyme activity was expressed in terms of specific activity (µg tyrosine liberated/mg protein/min.). The protein contents of the enzyme sample were determined by the method of Lowry *et al.* (1951).

RESULTS AND DISCUSSION

The variations obtained in the midgut protease activity in the larvae of *B. mori* exposed to the magnetic field of different strengths are given in Tables I-IV.

Exposure of the larvae to the magnetic field between 0.1 T and 0.35 T resulted in a gradual increase in the midgut protease activity. The increase was not similar in the various larval stages of the different strains and at all the field strengths. The increase in the enzyme activity during the fourth and fifth instars was more significant than during the first, second and third instars. The mulberry leaf consumption increased in the experimental larvae. The increase in the food consumption was concomitant with the increase in the field strength applied and it reached its peak at 0.3 T. Depending on the strain, the increase at this field strength varied between 20 and 35%.

The larvae exposed to 0.4 T and 0.5 T showed a decreased protease activity. These larvae also showed a reduction in the consumption of mulberry leaves by about 20 to 25%.

Variations in the midgut protease activity in the exposed larvae could also be analysed on the basis of their races/strains. In the pure bivoltine strain (NB4D2), the enzyme activity was higher than in the multivoltine variety (PM). This was true up to the field strength of 0.35 T. In the hybrids, the increase in the enzyme activity was less than that in the pure strains. At the field strength of 0.4 T or more, the decrease in the enzyme activity was higher in the hybrids than in the pure races.

Table I. Silkworm NB₄D₂ midgut protease after magnetisation (μg tyrosine liberated/mg protein/min.).Tableau I. Protéase de l'intestin moyen du ver à soie NB₄D₂ après aimantation (μg de tyrosine libérée/mg de protéines/minute).

Sl no.	Treatment	Exposed instar				
		First	Second	Third	Fourth	Fifth
N° de série	Traitement	Age d'exposition				
		Premier	Deuxième	Troisième	Quatrième	Cinquième
1	C	1.439 $\pm$ 0.240	1.439 $\pm$ 0.240	1.439 $\pm$ 0.240	1.439 $\pm$ 0.240	1.439 $\pm$ 0.240
2	0.1 T	1.471 $\pm$ 0.141	1.486 $\pm$ 0.411	1.583 $\pm$ 0.251	1.748 $\pm$ 0.141	1.820 $\pm$ 0.124
3	0.2 T	1.540 $\pm$ 0.235	1.572 $\pm$ 0.179	1.646 $\pm$ 0.098	1.990 $\pm$ 0.321	2.121 $\pm$ 0.139
4	0.3 T	1.618 $\pm$ 0.362	1.661 $\pm$ 0.241	1.747 $\pm$ 0.256	2.251 $\pm$ 0.160	2.362 $\pm$ 0.172
5	0.35 T	1.691 $\pm$ 0.120	2.147 $\pm$ 0.231	2.723 $\pm$ 0.192	3.074 $\pm$ 0.232	3.278 $\pm$ 0.061
6	0.4 T	0.862 $\pm$ 0.156	0.978 $\pm$ 0.073	1.005 $\pm$ 0.204	1.007 $\pm$ 0.345	1.052 $\pm$ 0.141
7	0.5 T	0.763 $\pm$ 0.315	0.892 $\pm$ 0.140	0.923 $\pm$ 0.229	0.964 $\pm$ 0.085	0.994 $\pm$ 0.246

C: Control / Témoin. $\pm$ Standard deviation / Ecart type.Table II. Silkworm PM midgut protease after magnetisation (μg tyrosine liberated/mg protein/min.).Tableau II. Protéase de l'intestin moyen du ver à soie PM après aimantation (μg de tyrosine libérée/mg de protéines/minute).

Sl no.	Treatment	Exposed instar				
		First	Second	Third	Fourth	Fifth
N° de série	Traitement	Age d'exposition				
		Premier	Deuxième	Troisième	Quatrième	Cinquième
1	C	0.533 $\pm$ 0.117	0.533 $\pm$ 0.117	0.533 $\pm$ 0.117	0.533 $\pm$ 0.117	0.533 $\pm$ 0.117
2	0.1 T	0.539 $\pm$ 0.198	0.562 $\pm$ 0.140	0.573 $\pm$ 0.181	0.619 $\pm$ 0.177	0.624 $\pm$ 0.145
3	0.2 T	0.562 $\pm$ 0.130	0.570 $\pm$ 0.139	0.604 $\pm$ 0.157	0.669 $\pm$ 0.110	0.759 $\pm$ 0.101
4	0.3 T	0.571 $\pm$ 0.140	0.612 $\pm$ 0.097	0.629 $\pm$ 0.042	0.799 $\pm$ 0.120	0.769 $\pm$ 0.169
5	0.35 T	0.629 $\pm$ 0.216	0.759 $\pm$ 0.102	0.914 $\pm$ 0.071	1.088 $\pm$ 0.059	1.146 $\pm$ 0.185
6	0.4 T	0.300 $\pm$ 0.145	0.371 $\pm$ 0.072	0.346 $\pm$ 0.109	0.372 $\pm$ 0.106	0.369 $\pm$ 0.092
7	0.5 T	0.235 $\pm$ 0.142	0.267 $\pm$ 0.072	0.348 $\pm$ 0.069	0.351 $\pm$ 0.071	0.360 $\pm$ 0.101

C: Control / Témoin. $\pm$ Standard deviation / Ecart type.

Table III. Silkworm PM $\times$ NB₄D₂ midgut protease after magnetisation (μ g tyrosine liberated/mg protein/min.).

Tableau III. Protéase de l'intestin moyen du ver à soie PM $\times$ NB₄D₂ après aimantation (μ g de tyrosine libérée/mg de protéines/minute).

Sl no.	Treatment	Exposed instar				
		First	Second	Third	Fourth	Fifth
N° de série	Traïement	Age d'exposition				
		Premier	Deuxième	Troisième	Quatrième	Cinquième
1	C	1.510 $\pm$ 0.251	1.510 $\pm$ 0.251	1.510 $\pm$ 0.251	1.510 $\pm$ 0.251	1.510 $\pm$ 0.251
2	0.1 T	1.522 $\pm$ 0.174	1.555 $\pm$ 0.155	1.595 $\pm$ 0.278	1.705 $\pm$ 0.216	1.737 $\pm$ 0.220
3	0.2 T	1.559 $\pm$ 0.286	1.611 $\pm$ 0.200	1.683 $\pm$ 0.123	1.820 $\pm$ 0.255	2.281 $\pm$ 0.236
4	0.3 T	1.597 $\pm$ 0.157	1.640 $\pm$ 0.128	1.727 $\pm$ 0.159	2.004 $\pm$ 0.202	2.342 $\pm$ 0.182
5	0.35 T	1.721 $\pm$ 0.141	2.077 $\pm$ 0.138	2.501 $\pm$ 0.327	2.876 $\pm$ 0.221	3.353 $\pm$ 0.247
6	0.4 T	0.721 $\pm$ 0.324	0.910 $\pm$ 0.205	0.944 $\pm$ 0.188	0.964 $\pm$ 0.223	0.980 $\pm$ 0.261
7	0.5 T	0.709 $\pm$ 0.211	0.870 $\pm$ 0.162	0.893 $\pm$ 0.212	0.941 $\pm$ 0.224	0.941 $\pm$ 0.124

C: Control / *Témoin*. $\pm$ Standard deviation / *Ecart type*.

Table IV. Silkworm NB₄D₂ $\times$ PM midgut protease after magnetisation (μ g tyrosine liberated/mg protein/min.).

Tableau IV. Protéase de l'intestin moyen du ver à soie NB₄D₂ $\times$ PM après aimantation (μ g de tyrosine libérée/mg de protéines/minute).

Sl no.	Treatment	Exposed instar				
		First	Second	Third	Fourth	Fifth
N° de série	Traïement	Age d'exposition				
		Premier	Deuxième	Troisième	Quatrième	Cinquième
1	C	1.418 $\pm$ 0.235	1.418 $\pm$ 0.235	1.418 $\pm$ 0.235	1.418 $\pm$ 0.235	1.418 $\pm$ 0.235
2	0.1 T	1.417 $\pm$ 0.245	1.464 $\pm$ 0.136	1.500 $\pm$ 0.415	1.559 $\pm$ 0.281	1.655 $\pm$ 0.321
3	0.2 T	1.463 $\pm$ 0.102	1.484 $\pm$ 0.199	1.556 $\pm$ 0.107	1.642 $\pm$ 0.105	1.843 $\pm$ 0.242
4	0.3 T	1.500 $\pm$ 0.224	1.521 $\pm$ 0.323	1.608 $\pm$ 0.304	1.792 $\pm$ 0.125	1.952 $\pm$ 0.284
5	0.35 T	1.568 $\pm$ 0.115	1.829 $\pm$ 0.149	2.253 $\pm$ 0.190	2.661 $\pm$ 0.208	2.739 $\pm$ 0.247
6	0.4 T	0.638 $\pm$ 0.209	0.830 $\pm$ 0.125	0.851 $\pm$ 0.128	0.876 $\pm$ 0.300	0.961 $\pm$ 0.270
7	0.5 T	0.613 $\pm$ 0.257	0.760 $\pm$ 0.280	0.849 $\pm$ 0.241	0.802 $\pm$ 0.147	0.915 $\pm$ 0.215

C: Control / *Témoin*. $\pm$ Standard deviation / *Ecart type*.

An activation of some enzymes like carboxymutase (Young, 1969), glutamate dehydrogenase (Akoyunoglou, 1965) and catalase (Young, 1969) has been obtained by application of a magnetic field in *in vitro* studies. An increase in the midgut protease activity was obtained in the present study up to a field strength of 0.35 T, beyond which the trend reversed. Increased lipase activity is reported by Todoron *et al.* (1967) in *Cucurbita maxima* provided with magnetised water. Young (1969) claims that the magnetic field treatment at low field strength is reversible in nature. As indicated above, at higher field strengths (0.4 T and 0.5 T), the enzyme activity is reduced considerably. In *in situ* studies, exposure to high magnetic fields has resulted in an inhibition of acetylcholinesterase (Young, 1969). An activation of the enzyme activity at lower field strengths and its inhibition at higher field strengths has been explained by Young (1969) as follows:

The low magnetic field acts on the enzyme molecule and produces a conformational change. According to him, this change is responsible for activation of the concerned enzyme system. At the highest field strength, the change brought about is destructive and hence the enzyme gets inhibited. Thus, due to the activation effect at low strength (up to 0.35 T), the activity of the midgut protease increases and at the higher field strengths, due to the destructive changes, there is a reduction in the enzyme activity.

It is known that the proteins in the food not only stimulate enzyme secretion, but also decide on how much of the enzyme is to be secreted. To add to this conclusion of Ishaaya *et al.* (1971), it could be mentioned that the exposure of the larvae to the low magnetic field might have resulted in the increased protein metabolism and to satisfy the increased need of the proteins, the larvae have to utilise more mulberry leaves, which in turn increases the enzyme secretion in the midgut tissue and hence in its activity. It has been already indicated that the increase in the midgut protease activity is most significant during the fourth and fifth instars. This could be explained on the basis of high consumption of mulberry leaves during these instars. It is known that about 75% of the total leaves consumed during the entire larval life are consumed during the last two instars and, in the final instar, about 70-80% of the consumed food is utilised for the silk synthesis (Sarangi, 1986; Jadhav and Kallapur, 1988). According to Ito (1978), about 60% of the total nitrogen of the mulberry leaves is used in the silk synthesis. The complex proteins in the mulberry leaves are converted by the midgut protease into simple molecules which serve as metabolites that are neglected during development, growth and other vital functions during the first three instars and during the last two instars; the proteins are utilised by the silk gland in the silk synthesis (Wigglesworth, 1972a, 1972b; Sarangi, 1986).

In conclusion, it may be considered that the magnetisation up to 0.35 T enhances activation of the midgut protease in silkworms of different races/strains. The additional enzyme activity is in turn responsible for the utilisation of additional quantities of mulberry leaves, providing more proteins to the silk glands for the enhanced silk synthesis.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to late Prof. A.T. Varute, former Head of the Department of Zoology and former Vice-Chancellor of Shivaji University, Kolhapur, for encouragement.

REFERENCES

- ADUS L.J. (1960) Magnetomorphism, a new plant growth response. *Nature*, 185, 132.
 AKOYUNOGLU G. (1965) Effect of magnetic field on carboxydismutase. *Nature*, 202, 452-454.
 APPLEBAUM S.W. (1985) Biochemistry of digestion. *In* Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology (Regulation: Digestion, Nutrition, Excretion), 4, 279-311. Ex. Ed. G.A. Kerkut and L.I. Gilbert, Pergamon Press.
 BECKER von G. (1979) The influence of geomagnetic and other physical conditions on various insects in an experimental area. *Ztg., Zngew. Zool.*, 66, 391-416.
 BOE A.A., SALUNKHE D.K. (1963) Effects of magnetic field on tomato ripening. *Nature*, 199, 91-92.
 BRICK Y., HARPAZ I., ISHAAYA I., BONDI A. (1962) Studies on the proteolytic activity of the beetles, *Tenebrio* and *Tribolium*. *J. Insect Physiol.*, 8, 417-429.

- CALDWELL W.E., RUSSO F. (1968) An exploratory study of the effect of an AC magnetic field upon the behaviour of the Italian honey bee (*Apis mellifera*). J. Genet. Phys., 113, 233-252.
- CHIABREA A., HINSENKAMP M., PILLA A.A., RYABI J., PONDITA D., BELMONT A., BELTRAME F., GRATTAROLO M., NICOLINI C. (1979) Cytofluorometry of electromagnetically controlled cell differentiation. J. Histochem. Cytochem., 27, 375-381.
- CHOUGALE A.K. (1992) Effects of magnetic energy on silkworm development and silk production. Ph.D. Thesis, Shivaji University, Kolhapur.
- CHOUGALE A.K., MORE N.K. (1993) Effect of magnetisation on acid and alkaline phosphatases in the developing silk gland of *Bombyx mori* (L.). Entomon., 18, 1-5.
- CONELY C.C., MILLS W.J., PATRICIA A.C. (1966) Enzyme activity in macrophages from animals exposed to a very low magnetic field. 3rd International Biomagnetic Symposium, University of Illinois, Chicago, 13-15.
- EGUCHI M., ARAI M. (1983) Relationship between alkaline protease from the midgut lumen and epithelia of the silkworm: solubilization and activation of epithelial protease. Comp. Biochem. Physiol., 75B, 589-593.
- EGUCHI M., IWAMOTO A. (1982) Comparison of three alkaline proteases from digestive fluid of the silkworm, *Bombyx mori* L. Comp. Biochem. Physiol., 71B, 663-668.
- ESPINOZA-FUENTES F.P., FERREIRA C., TERRA W.R. (1984) Spatial organization of digestion in the larval and imaginal stages of the sciarid fly, *Trichosia pubescens*. Insect Biochem., 14, 631-638.
- GOODING R.H. (1972) Digestive process of haematophagous insects. I. A literature review. Quaest. Ent., 8, 5-60.
- ISHAAYA I., MOORE I., JOSEPH D. (1971) Protease and amylase activity in larvae of the Egyptian cotton worm, *Spodoptera littoralis*. J. Insect Physiol., 17, 945-953.
- ITO T. (1978) Silkworm nutrition. In The Silkworm: An Important Laboratory Tool. 121-157. Ed. Y. Tazima, Kodansha, Tokyo, 317 pp.
- IWAMOTO A., EGUCHI M. (1978) Enzymatic properties of three proteases in the digestive juice of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 47, 285-291.
- JADHAV G., KALLAPUR V.L. (1988) Influence of age, sex and feeding on the protease activity of certain tissues of fifth instar silkworm, *Bombyx mori*. Entomon., 13, 289-293.
- KREGUER W.F., BRADELY J.W., GIAROLA A.J., DURUVALLA S.R. (1972) Influence of low-level electric and magnetic fields on the growth of young chickens. ISA Trans., BM 72335, 18-186.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYAN A.K., KUMARARAJ S. (1973) Manual on Sericulture. Vol. 2: Silkworm Rearing. FAO Agricultural Services Bull., 15, 54-91.
- KURIYAMA K., EGUCHI M. (1985) Conversion of the molecular form by alkaline treatment of gut protease from the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 43, 296-303.
- LIBOFF A.R., WILLIAMS T. Jr, STRONG N.N., WISTAR R. Jr (1984) Time varying magnetic fields: effects on DNA synthesis. Science, 223, 818-820.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- PITTMAN U.J., ANSTEY T.H. (1967) quoted in: Electromagnetic field induced in *in vitro* pollen germination and tube growth. ALLEXANDER M.P., GANESHAN S. (1990), Current Sci., 59, 211-277.
- PITTMAN U.J., ORMORD D.P. (1970) Physiological and chemical features of magnetically treated winter seeds and resulting seedlings. Can. J. Plant Sci., 50, 211-217.
- RAMIREZ E., MONTEAGUDO J.L., GARCIA-GARCIA M., DELGADO J.M.R. (1983) Oviposition and development of *Drosophila* modified by magnetic fields. Bioelectromagnetics, 4, 315-326.
- SARANGI S.K. (1986) Studies on midgut protease activity during fifth instar development of the silkworm, *Bombyx mori* L. Entomon., 11, 165-169.
- TARAKHOVSKY M.L., SAMBROSKYA E.P., MEDVEDV B.M., ZADEROZHNYAYA T.D., OKHRONCHUK B.V., LIKHENSTEIN E.M. (1971) Effects of constant and alternating magnetic fields on some indices of physiological functions and metabolic process in albinos rats. Fiziol. Zh. Kiev Acad. Nauk. Ukr. (SSR), 17, 452-459.

- TODORON S.I., GORAN, GEMISHEV IS.M. (1967) Stimulative biomagnetic effect under action of a magnetic field and magnetised water upon the seeds of *Cucurbita maxima* Duch. God. Sofii Skiya. Unic. Biol. Fak. Kn. 2Bot. Mikrobiol. Fizol. Biokhim. Rast., 61, 239-250.
- UDINSTEV N.A., MOROZ V.V. (1982) Function of hypophyseal adrenal system under the effect of power frequency variable magnetic field of different regimes. Gig. Tr. Prof. Zabol., 12, 54-56.
- WIGGLESWORTH V.B. (1972a) The Principles of Insect Physiology. Chapman and Hall, London.
- WIGGLESWORTH V.B. (1972b) Digestion and nutrition. *In* The Principles of Insect Physiology. 476-552. Butler and Tanner Ltd., Frome.
- YOUNG W. (1969) Magnetic field and *in situ* acetylcholinesterase in the vagal heart system. *In* Biological Effects of Magnetic Field. 2, 79-102, ed. M.F. Barnothy, Plenum Press, New York.

INFLUENCE DU CHAMP MAGNETIQUE SUR LA PROTEASE DE L'INTESTIN MOYEN DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* (L.)

A.K. CHOUGALE, G.P. BHAWANE, B.K. PAWAR & N.K. MORE*

Department of Zoology, Shivaji University, Kolhapur - 416 004, Inde.

L'influence du champ magnétique sur la protéase de l'intestin moyen chez certaines races de Bombyx mori (L.) a été étudiée au cours de la croissance larvaire et du développement. Une augmentation progressive de l'activité enzymatique a été observée après exposition des larves à une force de champ magnétique de 0,1 T à 0,35 T, force au-delà de laquelle l'activité diminue. Les variations d'activité enzymatique obtenues sont significatives pour le quatrième et le cinquième âge. L'augmentation de l'activité est plus marquée chez les races pures que chez les hybrides de Bombyx mori. Les résultats sont discutés.

INTRODUCTION

La présence d'une activité protéolytique dans le lumen, l'épithélium et la membrane péritrophique de l'intestin moyen a été mise en évidence chez *Bombyx mori* (Eguchi et Arai, 1983 ; Sarangi, 1986). Une activité protéase significative a été démontrée dans le suc digestif du ver à soie (Jadhav et Kallapur, 1988). Iwamoto et Eguchi (1978) en ont isolé trois composants chez le ver à soie et ont analysé leurs propriétés. Eguchi et Iwamoto (1982) ont indiqué que la protéase de l'intestin moyen chez le ver à soie est de nature analogue à la trypsine. On suppose que la protéase du lumen de l'intestin de cet insecte est sécrétée par les cellules épithéliales de l'intestin moyen (Kuriyama et Eguchi, 1985). La protéase intestinale a été étudiée de manière approfondie chez différents insectes (Espinoza-Fuentes et coll., 1984). Son activité dépend des habitudes alimentaires de l'insecte (Applebaum, 1985), la quantité d'aliments (Gooding, 1972) et la souche de ver à soie (Sarangi, 1986).

On sait que les larves du dernier âge digèrent et utilisent les réserves nutritives des feuilles de mûrier de manière très efficace. De nombreux chercheurs ont opposé qu'il existait une différenciation fonctionnelle entre le suc digestif et les tissus de l'intestin moyen ; c'est-à-dire que les protéines moléculaires sont hydrolysées en peptides dans les sucs digestifs et en acides aminés avec les peptidases dans les tissus de l'intestin moyen (Jadhav et Kallapur, 1988). Au cours du stade larvaire, la protéase joue un rôle important dans la nutrition et influe sur la production de soie chez le ver à soie. Il est bien connu que les larves d'insectes utilisent efficacement les protéines exogènes au cours de leur croissance et de leur développement. Chez le ver à soie, plus de 60 % de l'azote total issu des feuilles de mûrier sont utilisés dans la synthèse de la soie (Ito, 1978).

L'exposition d'un système biologique à un champ magnétique induit des modifications morphologiques (Pittman et Anstey, 1967), physiologiques (Boe et Salunkhe, 1963) et biochimiques (Pittman et Ormord, 1970 ; Akoyunoglou, 1965 ; Adus, 1960). Certaines des modifications des

* Auteur à contacter pour toute correspondance.

systèmes biologiques dues à l'exposition à différentes forces de champ magnétique et sur différentes durées sont présentées dans le tableau suivant :

N° de série	Référence	Systèmes testés	Conditions d'exposition	Résultats
1	Becker (1979)	Termite	50 Hz, 0.05 mT dans une pièce isolée ; exposition pendant plusieurs semaines	Stimulation de la construction de galeries
2	Caldwell et Russo (1968)	Abeille	60 Hz, 2.2-30 mT expositions de 10 minutes	Altération du comportement d'exploration
3	Chiabrea et coll. (1979)	Embryogenèse de la grenouille	Pulsions simples bi-directionnelles de 40 à 70 Hz, ou pulsions bi-directionnelles de 4 kHz à un taux de répétition de 10-20 Hz, intensité du pic : 2 mT ; expositions de 12 à 24 h	Altération de la structure de la chromatine dans le noyau cellulaire suggérant une différenciation
4	Kreguer et coll. (1972)	Poulet	45 Hz, 0.14 mT et 60 Hz, 0.12 mT, exposition pendant 1 mois	Réduction du taux de croissance chez les jeunes animaux
5	Liboff et coll. (1984)	Fibroblastes humains cultivés	15 Hz-4 kHz 2.3-560 mT expositions de 16 à 18 h	Augmentation de la synthèse d'ADN
6	Ramirez et coll. (1984)	Drosophile (oeufs)	pulsations d'onde 0.5 ms ² à 100 Hz, intensité pic à pic de 1.76 mT ou à 50 Hz, champ sinusoïdal : 1.41 mT exposition : 2 jours	Diminution de la viabilité des oeufs
7	Tarakhovsky et coll. (1971)	Rat	50 Hz, 13-14 mT exposition pendant 1 mois	Modifications de la chimie du sérum et de la morphologie des tissus
8	Udinstev et Moroz (1982)	Rat	50 Hz, 20 mT, 6.5 h/jour pendant 7 jours	Modifications significatives des taux d'hormones

Des modifications quantitatives de la phosphatase acide se produisent dans les tissus de la souris et dans les glandes séricigènes du ver à soie *Bombyx mori* (Conely et coll., 1956 ; Chougale, 1992 ; Chougale et More, 1993) lorsque ces animaux sont exposés à un champ magnétique. Young (1969) a obtenu des modifications de la configuration moléculaire de la phosphatase acide qui se traduisent par une augmentation ou une diminution, suivant la force du champ magnétique chez la souris. On a mis en évidence une augmentation des protéines de la glande séricigène, entraînant une augmentation du rendement en soie (Chougale, 1992). Cet article analyse l'influence des forces de champ magnétique sur la protéase de l'intestin moyen chez différentes races/souches de *B. mori*.

MATERIELS ET METHODES

Les souches pures de ver à soie NB4D2 (bivoltine) et PM (polyvoltine) et leurs hybrides (NB4D2 × PM et PM × NB4D2) ont été utilisés pour ces expériences. Des pontes saines de qualité ont été fournies par le *Government Grainage Centre* de Gadhinglaj (Dist. Kolhapur, Inde) qui est géré et sous tutelle du *Central Silk Board* de Bangalore. Les oeufs ont été incubés à 25 °C à une humidité relative de 80 à 85 % pendant toute la durée de la période d'incubation. Les larves témoins et expérimentales ont été conservées dans des conditions identiques de température, d'humidité et de nourrissage. Les larves ont été nourries avec des feuilles de mûrier (M5). La méthode d'élevage de Krishnaswami et coll. (1973) a été suivie.

Les larves de chaque ponte saine ont été divisées en deux lots. Le premier lot a été utilisé comme témoin et le deuxième a été divisé en plusieurs groupes expérimentaux, correspondant chacun à une force de champ magnétique et à un âge larvaire. Les larves ont été traitées du premier au dernier âge. Les champs magnétiques sélectionnés pour cette étude sont de 0,1 T, 0,2 T, 0,3 T, 0,35 T, 0,4 T et 0,5 T.

Les larves ont été exposées à un champ magnétique homogène et continu, d'après la méthode élaborée par Chougale (1992) et Chougale et More (1993), en masse (séparément pour un âge donné et pour une force magnétique donnée) en les maintenant dans des conteneurs perforés en plastique placés entre les deux pôles d'un électroaimant axial de type EM-50.

La force magnétique voulue a été obtenue en réglant la distance entre les deux pôles, mesurée avec un compteur Gauss digital. Du premier au quatrième âge, les larves ont été exposées séparément pendant 20 minutes à 24 heures d'intervalle pendant toute la durée de l'âge larvaire. Au cinquième âge, les larves ont été exposées pendant 20 minutes à 24 heures d'intervalles les trois premiers jours. Les larves ainsi exposées n'ont pas été exposées à nouveau à aucun des stades ultérieurs de leur développement. L'activité protéase de l'intestin moyen a été déterminée au cinquième jour du cinquième âge, quel que soit le stade d'exposition au champ magnétique.

Cinq larves ont été sélectionnées au hasard dans chacun des groupes (expérimentaux et témoins). Les intestins moyens ont été disséqués et lavés dans de l'eau distillée réfrigérée afin d'ôter les débris. Le tissu a été pesé et broyé dans un tampon froid tris-HCl (pH 8,5) dans un mortier en verre réfrigéré, à l'aide d'un pilon en Téflon. Les broyats ont été centrifugés à 5 000 tours/minute à 4 °C. Le surnageant a été utilisé pour le dosage de l'enzyme.

L'activité protéase a été déterminée d'après la méthode de Brick et coll. (1962) modifiée par Ishaaya et coll. (1971). Un mélange de 0,4 ml de caséine à 1 % et 0,2 ml de tampon tris-HCl a été incubé avec 0,2 ml de la préparation enzymatique pendant 60 minutes à 30 °C. L'activité enzymatique a été arrêtée en ajoutant 2,4 ml d'acide trichloroacétique au mélange d'incubation. Le contenu de l'éprouvette a été centrifugé à 5 000 tours/minute. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 280 µm. Pour le témoin, l'échantillon enzymatique a été remplacé par de l'eau distillée. Un autre échantillon, dont la source enzymatique a été dénaturée avant l'addition du substrat, a également servi de témoin. L'activité enzymatique est exprimée en termes d'activité spécifique (µg de tyrosine libérée/mg de protéines/min.). Les contenus en protéines de l'échantillon enzymatique ont été déterminés d'après la méthode de Lowry et coll. (1951).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les variations obtenues pour l'activité protéase de l'intestin moyen chez les larves de *B. mori* exposées à des champs magnétiques de différentes forces sont présentées dans les tableaux I à IV.

L'exposition des larves à un champ magnétique de 0,1 T à 0,35 T entraîne une augmentation progressive de l'activité protéase de l'intestin moyen. L'augmentation n'est pas identique à tous les âges larvaires chez les différentes souches et pour toutes les forces magnétiques. L'augmentation de l'activité enzymatique au quatrième et au cinquième âge est plus significative qu'aux premier, deuxième et troisième âges. La consommation de feuilles de mûrier augmente chez les larves expérimentales. L'augmentation de la consommation de nourriture est concomitante de

l'augmentation de la force de champ magnétique appliquée et atteint son pic à 0,3 T. Suivant la souche, l'augmentation de consommation à cette force magnétique varie de 20 à 35 %.

Les larves exposées à des forces magnétiques de 0,4 T et 0,5 T présentent une diminution de l'activité protéase ainsi qu'une diminution de la consommation de feuilles de mûrier d'environ 20 à 25 %.

Les variations de l'activité protéase de l'intestin moyen chez les larves traitées peuvent également être analysées sur la base de la race/souche à laquelle elles appartiennent. Chez la souche bivoltine pure (NB₄D₂), l'activité enzymatique est plus élevée que chez la variété polyvoltine (PM) ; ceci est vrai jusqu'à la force magnétique de 0,35 T. Chez les hybrides, l'augmentation de l'activité enzymatique est inférieure à celle observée chez les souches pures. A une force magnétique supérieure ou égale à 0,4 T, la diminution de l'activité enzymatique est plus élevée chez les hybrides que chez les races pures.

L'activation de certaines enzymes comme la carboxymutase (Young, 1969), la glutamate déshydrogénase (Akoyunoglou, 1965) et la catalase (Young, 1969) a été obtenue par application d'un champ magnétique dans des études *in vitro*. Dans cette étude, nous avons obtenu une augmentation de l'activité protéase par exposition d'une force magnétique allant jusqu'à 0,35 T, au-delà de laquelle la tendance s'inverse. Todoron et coll. (1967) ont observé une augmentation de l'activité lipase chez *Curcubita maxima* traité avec de l'eau aimantée. D'après Young (1969), le traitement par un champ magnétique de force faible est de nature réversible. Comme il est indiqué plus haut, l'exposition à des forces magnétiques élevées (0,4 T et 0,5 T) entraîne une réduction considérable de l'activité enzymatique. Dans des études *in situ*, il a été démontré que l'exposition à des champs magnétiques forts se traduit par une inhibition de l'acétylcholinestérase (Young, 1969). L'activation de l'activité enzymatique à des forces magnétiques faibles et son inhibition à des forces magnétiques élevées ont été expliquées par Young (1969).

Un champ magnétique faible agit sur la molécule enzymatique et produit une modification configurationnelle. D'après lui, cette modification est responsable de l'activation du système enzymatique concerné. A la force magnétique maximale, la modification provoquée est destructrice et l'enzyme est inhibée. Aussi, du fait de l'effet de l'activation à une force faible (jusqu'à 0,35 T), l'activité protéase de l'intestin moyen augmente et, à des forces magnétiques élevées, du fait des modifications destructrices, il y a diminution de l'activité enzymatique.

On sait que les protéines de la nourriture non seulement stimulent la sécrétion d'enzymes mais décident également de la quantité d'enzymes à sécréter. Pour étayer cette conclusion d'Ishaaya et coll. (1971), il convient de souligner que l'exposition des larves à un champ magnétique faible pourrait avoir entraîné une augmentation du métabolisme protéique et, afin de répondre au besoin accru de protéines, les larves doivent utiliser davantage de feuilles de mûrier, ce qui se traduit par une augmentation de la sécrétion d'enzyme dans le tissu de l'intestin moyen et, donc, de son activité. Il a été indiqué que l'augmentation de l'activité protéase de l'intestin moyen est la plus significative au quatrième et au cinquième âge. Ceci pourrait s'expliquer par la consommation élevée de feuilles de mûrier au cours de ces âges. On sait qu'environ 75 % de la totalité des feuilles consommées au cours du stade larvaire sont consommées pendant les deux derniers âges et qu'environ 70 à 80 % de la nourriture consommée est utilisée pour la synthèse de la soie au dernier âge (Sarangi, 1986 ; Jadhav et Kallapur, 1988). D'après Ito (1978), environ 60 % de l'azote total des feuilles de mûrier sont utilisés dans la synthèse de la soie. Les protéines complexes des feuilles de mûrier sont converties par la protéase de l'intestin moyen en molécules simples qui servent de métabolites ; elles sont négligées au cours du développement, de la croissance et autres fonctions vitales des trois premiers âges mais, durant les deux derniers âges, les protéines sont utilisées par la glande séricigène pour la synthèse de soie (Wigglesworth, 1972a, 1972b ; Sarangi, 1986).

En conclusion, on peut considérer que l'exposition à une force magnétique ne dépassant pas 0,35 T accélère l'activation de la protéase de l'intestin moyen du ver à soie chez différentes races/souches. Cette activité enzymatique supplémentaire est, à son tour, responsable de l'utilisation de quantités supplémentaires de feuilles de mûrier et permet de fournir davantage de protéines aux glandes séricigènes pour augmenter de la synthèse de soie.

EFFECT OF NITROGENOUS FERTILIZERS ON THE GROWTH AND YIELD OF MULBERRY

S.K. MANJULA & M.A. SHANKAR

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore - 560065, India.

A field experiment was conducted at the Main Research Station, Hebbal, Bangalore, during the year 1991-92, to study the effect of nitrogenous fertilizers on the growth and leaf yield of the mulberry variety S-54. The experiment consisted of eleven sources of nitrogen and one control with farmyard manure (FYM) only. The highest leaf yield and best growth performance were recorded in mulberry plots treated with calcium ammonium nitrate (CAN), ammonium nitrate and 15-all (a complex fertilizer) when compared to the control and other nitrogenous sources.

Keywords: Mulberry, nitrogenous fertilizers, CAN, ammonium nitrate.

INTRODUCTION

Nitrogen has been recognized as the most important nutrient in the production of mulberry leaves. Nitrogen fertilizer efficiency is influenced by sources of N and the interaction of these sources with the method of application (Raun *et al.*, 1989). Each and every source of nitrogen has characteristic advantages and disadvantages, but no single form is optimum under all conditions (Garrett, 1987). The present experiment was undertaken with a view to studying the effect of sources of nitrogenous fertilizers in order to use the best ones as an alternative of another in its scarcity or absence.

MATERIALS AND METHODS

An experiment was laid out as a completely randomised block design using S-54 mulberry with a spacing of 60 × 60 cm under irrigated conditions in red sandy loam soil, having a pH of 6.4. Normal fertilisation of 280 N, 120 P₂O₅ and 120 K₂O kg per ha per year was provided (Krishnaswami, 1986). Nitrogen was applied in six split doses 60:40:40:60:40:40 after each harvest. The treatments, ammonium nitrate (A. nitrate), calcium ammonium nitrate (CAN), ammonium sulphate (A. sulphate), urea gypsum (UG), urea + gypsum (U + G), urea rock phosphate (URP), urea + elemental sulphur (U + Ele. S.) and urea + Ca (OH)₂ (U + Ca(OH)₂), were used as basal doses and for top dressing, whereas complex fertilizers were used only as basal doses in the 1st and 4th crops and in the 2nd, 3rd, 5th and 6th crops. Ammonium nitrate (for 15-all) and urea (for 17-all and 19-all) were used for top dressing, phosphorus and potassium were applied in the form of single super phosphate and muriate of potash, respectively, for the 1st and 4th crops, 60 kg each per ha per year in two split doses. Periodical observations on growth parameters such as the number of shoots per plant, shoot height and number of leaves per plant were recorded at regular intervals. The fresh leaf yield per plant was recorded at harvest. Further, the leaf yield per hectare was computed using the leaf yield harvested from the net plot and expressed on a hectare basis.

RESULTS AND DISCUSSION

The number of shoots per plant differed significantly on the 60th day with all the nitrogenous treatments when compared to the control FYM only (8.46) (Table I). Treatments with CAN (12.03) and ammonium nitrate (11.69) were on a par with each other and recorded significantly higher mean numbers of shoots per plant over the other treatments.

Nitrogenous fertilizer-treated plots recorded significantly higher mean shoot heights as compared to the control with only FYM (55.93 cm) (Table II). Among the sources of nitrogenous fertilizer, CAN (88.94 cm) remained on a par with 15-all (84.83 cm). Nevertheless, UG (84.87 cm) and A. nitrate (84.39 cm) recorded significantly higher mean shoot heights over the other sources of nitrogen.

Table I. Number of shoots in S-54 mulberry as influenced by sources of nitrogenous fertilizers on the 60th day.

Tableau I. Nombre de pousses au 60e jour chez la variété du mûrier S-54 en fonction de la source d'engrais azoté.

Treatment <i>Traitement</i>		Number of shoots/plant / <i>Nombre de pousses par plant</i>						Mean <i>Moyenne</i>
		Crops / <i>Récoltes</i>						
		1	2	3	4	5	6	
T ₁	15:15:15 all / <i>tous composants</i>	9.70	12.90	9.10	11.30	12.90	10.20	11.01
T ₂	17:17:17 all / <i>tous composants</i>	9.90	13.20	8.80	11.50	12.90	10.50	11.13
T ₃	19:19:19 all / <i>tous composants</i>	9.80	13.60	9.03	11.60	13.30	10.30	11.29
T ₄	A. nitrate	10.10	14.00	9.70	11.80	13.80	10.76	11.69
T ₅	CAN	10.10	14.20	9.90	12.63	14.60	10.80	12.03
T ₆	A. sulphate	9.50	13.50	9.96	10.80	13.73	9.50	11.06
T ₇	UG	9.30	13.70	9.20	11.00	13.70	9.76	11.11
T ₈	U + G	9.53	12.63	9.10	11.20	13.56	9.76	10.96
T ₉	URP	9.70	12.50	9.20	11.40	13.60	9.90	11.05
T ₁₀	U + Ele. S	9.70	12.90	9.36	11.80	14.13	10.10	11.33
T ₁₁	U + Ca (OH) ₂	9.90	13.00	9.00	11.60	14.00	10.20	11.28
T ₁₂	FYM only / <i>seul</i>	8.40	9.00	7.60	8.46	9.50	7.80	8.46
'F' test / <i>Test F</i>		*	*	*	*	*	*	*
SEm ±		0.05	0.03	0.08	0.07	0.07	0.07	0.19
CD at 5%		0.13	0.08	0.24	0.21	0.20	0.21	0.54

A. nitrate: Ammonium nitrate. CAN: Calcium ammonium nitrate. A. sulphate: Ammonium sulphate. UG: Urea gypsum. U + G: Urea + gypsum. URP: Urea rock phosphate. U + Ele. S: Urea + elemental sulphate. U + Ca: Urea + Ca(OH)₂. FYM: Farmyard manure. SEm: Standard error of the mean.

A. nitrate : Ammonitrate. CAN : Ammonitrate de chaux. A. sulphate : Sulfate d'ammonium. UG : Cristaux d'urée. U + G : Urée + gypse. URP : Phosphate naturel uréique. U + Ele. S : Urée + soufre naturel. U + Ca : Urée + Ca (HO)₂. FYM : Fumier de ferme. SEm : Ecart type de la moyenne.

Among the treatments, CAN (119.89), A. nitrate (115.83) and 15-all (113.58) recorded significantly higher mean number of leaves per plant when compared to all other sources of nitrogen (Table III).

The treatments 15-all (211.68 g), 17-all (215.91 g), 19-all (208.05 g), A. nitrate (219.59 g) and CAN (215.96 g) recorded significantly higher fresh leaf yields per plant when averaged over six crops, as compared to the other sources of nitrogen (Table IV).

Table II. Shoot height in S-54 mulberry as influenced by sources of nitrogenous fertilizers on the 60th day.

Tableau II. Hauteur des pousses au 60e jour chez la variété du mûrier S-54 en fonction de la source d'engrais azoté.

Treatment <i>Traitement</i>		Shoot height / <i>Hauteur des pousses</i>						Mean <i>Moyenne</i>
		Crops / <i>Récoltes</i>						
		1	2	3	4	5	6	
T ₁	15:15:15 all / <i>tous composants</i>	61.00	99.85	62.96	102.63	122.90	59.68	84.83
T ₂	17:17:17 all / <i>tous composants</i>	59.17	93.91	62.63	105.55	118.63	59.70	83.26
T ₃	19:19:19 all / <i>tous composants</i>	59.40	96.23	62.12	101.30	117.90	60.76	82.95
T ₄	A. nitrate	60.61	99.74	63.39	106.74	117.37	58.48	84.39
T ₅	CAN	62.61	101.75	64.97	114.53	126.10	63.70	88.94
T ₆	A. sulphate	57.51	92.93	58.23	97.51	116.48	58.24	80.15
T ₇	UG	59.81	98.68	60.68	111.77	118.26	57.67	84.47
T ₈	U + G	57.86	90.93	58.92	96.14	106.42	56.29	77.76
T ₉	URP	57.18	90.33	57.63	92.62	99.39	55.64	75.46
T ₁₀	U + Ele. S	58.10	96.32	60.79	99.10	110.80	59.35	80.74
T ₁₁	U + Ca (OH) ₂	58.12	95.24	59.17	96.63	106.06	60.18	79.23
T ₁₂	FYM only / <i>seul</i>	46.92	61.99	45.78	61.93	77.32	41.65	55.93
'F' test / <i>Test F</i>		NS	*	*	*	*	*	*
SEm ±		0.75	1.19	0.72	1.97	1.26	0.78	1.93
CD at 5%		-	3.49	2.13	5.79	3.69	2.29	5.34

A. nitrate: Ammonium nitrate. CAN: Calcium ammonium nitrate. A. sulphate: Ammonium sulphate. UG: Urea gypsum. U + G: Urea + gypsum. URP: Urea rock phosphate. U + Ele. S: Urea + elemental sulphate. U + Ca: Urea + Ca(OH)₂. FYM: Farmyard manure. SEm: Standard error of the mean.

A. nitrate : Ammonitrate. CAN : Ammonitrate de chaux. A. sulphate : Sulfate d'ammonium. UG : Cristaux d'urée. U + G : Urée + gypse. URP : Phosphate naturel uréique. U + Ele. S : Urée + soufre naturel. U + Ca : Urée + Ca (HO)₂. FYM : Fumier de ferme. SEm : Ecart type de la moyenne.

The total leaf yield of mulberry differed significantly in all six crops (Table V). A significantly higher total leaf yield was recorded by the treatments 15-all (36 863 kg/ha/yr), CAN (36 295 kg/ha/yr) and A. nitrate (36 071 kg/ha/yr) and were on a par with the other sources except the control with only FYM (19 959 kg/ha/yr). A. sulphate (34 624 kg/ha/yr), U + G (34 802 kg/ha/yr) and U + Ca (OH)₂ (34 970 kg/ha/yr) were significantly lower in the total leaf yield/ha.

The better performance of nitrogenous fertilizers, especially CAN, A. nitrate and complex fertilizers, in increasing the total leaf yield when compared to the control and the other nitrogenous sources is also supported by other growth factors like the number of leaves per plant, shoot height, number of shoots per plant and fresh leaf yield per plant, which contributed to the overall development

Table III. Number of leaves in S-54 mulberry as influenced by sources of nitrogenous fertilizers on the 60th day.

Tableau III. Nombre de feuilles au 60e jour chez la variété du mûrier S-54 en fonction de la source d'engrais azoté.

Treatment <i>Traitement</i>		Number of leaves/plant / <i>Nombre de feuilles/plant</i>						Mean <i>Moyenne</i>
		Crops / <i>Récoltes</i>						
		1	2	3	4	5	6	
T ₁	15:15:15 all / <i>tous composants</i>	90.33	124.83	93.36	122.42	131.93	118.65	113.58
T ₂	17:17:17 all / <i>tous composants</i>	77.90	117.09	89.46	116.80	130.20	120.81	108.71
T ₃	19:19:19 all / <i>tous composants</i>	75.90	122.20	83.83	120.30	129.75	121.68	108.94
T ₄	A. nitrate	91.23	129.78	97.56	122.23	135.39	118.81	115.83
T ₅	CAN	94.38	134.41	100.00	125.25	138.68	126.65	119.89
T ₆	A. sulphate	77.73	116.38	79.55	105.20	119.81	109.26	101.32
T ₇	UG	80.16	125.30	82.31	109.23	126.33	117.59	106.82
T ₈	U + G	76.45	115.81	79.28	107.27	120.46	106.57	100.96
T ₉	URP	72.83	118.23	83.48	113.99	119.93	98.49	101.15
T ₁₀	U + Ele. S	75.96	115.28	85.95	115.35	134.18	100.91	104.60
T ₁₁	U + Ca (OH) ₂	76.05	113.48	88.66	121.87	137.53	115.37	108.81
T ₁₂	FYM only / <i>seul</i>	59.56	79.28	60.71	79.26	90.83	73.31	73.82
'F' test / <i>Test F</i>		*	*	*	*	*	*	
SEm ±		0.82	0.93	0.74	1.11	1.20	0.89	1.94
CD at 5%		2.40	2.71	2.81	3.26	3.51	2.61	5.38

A. nitrate: Ammonium nitrate. CAN: Calcium ammonium nitrate. A. sulphate: Ammonium sulphate. UG: Urea gypsum. U + G: Urea + gypsum. URP: Urea rock phosphate. U + Ele. S: Urea + elemental sulphate. U + Ca: Urea + Ca(OH)₂. FYM: Farmyard manure. SEm: Standard error of the mean.

A. nitrate : Ammonitrate. CAN : Ammonitrate de chaux. A. sulphate : Sulfate d'ammonium. UG : Cristaux d'urée. U + G : Urée + gypse. URP : Phosphate naturel uréique. U + Ele. S : Urée + soufre naturel. U + Ca : Urée + Ca (HO)₂. FYM : Fumier de ferme. SEm : Ecart type de la moyenne.

of the plant and growth attributes, as observed periodically and on an overall basis of six crops, thus leading to a higher leaf yield in these treatments. The results are comparable with the findings of Rajanna *et al.* (1988), Shankar (1990) and Teotia *et al.* (1992) who also reported a significant improvement in the leaf yield and other growth parameters after application of CAN followed by urea and others. Further, Sreenivasa Shetty (1988) also reported that application of complex fertilizer 15-all, followed by ammonium chloride and ammonium sulphate, to mulberry resulted in 15 to 18 per cent increase in leaf yield/ha and significant improvement in the shoot height and number of leaves. Thus it is evident from the present investigation that either CAN, ammonium nitrate or the complex fertilizer 15-all can be used as nitrogen sources, as these fertilizers have improved the growth and yield of mulberry.

Table IV. Fresh leaf yield per plant in S-54 mulberry as influenced by sources of nitrogenous fertilizers at harvest.

Tableau IV. Rendement en feuilles fraîches par plant au moment de la récolte chez la variété du mûrier S-54 en fonction de la source d'engrais azoté.

Treatment Traïtement	Fresh leaf yield/plant (g) / Rendement en feuilles/plant (g)						
	Crops / Récoltes						Mean Moyenne
	1	2	3	4	5	6	
T ₁ 15:15:15 all / tous composants	193.01	240.28	215.91	220.66	194.66	205.56	211.68
T ₂ 17:17:17 all / tous composants	209.67	229.02	238.73	241.46	179.66	198.93	215.91
T ₃ 19:19:19 all / tous composants	185.84	232.82	220.76	227.36	183.26	198.26	208.05
T ₄ A. nitrate	187.79	252.00	235.53	234.56	208.36	199.30	219.59
T ₅ CAN	197.68	225.76	230.04	220.50	215.40	206.40	215.96
T ₆ A. sulphate	147.81	210.20	195.60	181.36	192.50	189.60	186.18
T ₇ UG	174.66	256.56	202.86	196.26	205.80	179.40	202.59
T ₈ U + G	175.52	205.10	200.23	185.20	173.13	169.03	184.70
T ₉ URP	165.17	202.26	195.50	189.23	169.46	176.43	183.00
T ₁₀ U + Ele. S	192.39	212.20	207.56	206.03	196.76	185.43	200.06
T ₁₁ U + Ca (OH) ₂	186.30	240.56	210.46	210.23	188.48	197.06	205.51
T ₁₂ FYM only / seul	110.28	135.53	127.46	119.30	117.20	135.23	123.11
'F' test / Test F	*	*	*	*	*	*	*
SEm ±	3.64	5.63	4.37	3.41	3.19	3.37	4.62
CD at 5%	10.67	16.51	12.82	7.07	9.34	9.87	12.80

A. nitrate: Ammonium nitrate. CAN: Calcium ammonium nitrate. A. sulphate: Ammonium sulphate. UG: Urea gypsum. U + G: Urea + gypsum. URP: Urea rock phosphate. U + Ele. S: Urea + elemental sulphate. U + Ca: Urea + Ca(OH)₂. FYM: Farmyard manure. SEm: Standard error of the mean.

A. nitrate : Ammonitrate. CAN : Ammonitrate de chaux. A. sulphate : Sulfate d'ammonium. UG : Cristaux d'urée. U + G : Urée + gypse. URP : Phosphate naturel uréique. U + Ele. S : Urée + soufre naturel. U + Ca : Urée + Ca (HO)₂. FYM : Fumier de ferme. SEm : Ecart type de la moyenne.

Table V. Leaf yield per hectare in S-54 mulberry as influenced by sources of nitrogenous fertilizers at harvest.

Tableau V. Rendement en feuilles par hectare chez la variété du mûrier S-54 au moment de la récolte en fonction de la source d'engrais azoté.

Treatment <i>Traitement</i>		Leaf yield (kg/ha) / <i>Rendement en feuilles (kg/ha)</i>						Mean <i>Moyenne</i>
		Crops / <i>Récoltes</i>						
		1	2	3	4	5	6	
T ₁	15:15:15 all / <i>tous composants</i>	5982.38	6089.33	6465.00	6161.66	6142.33	6023.00	36863.44
T ₂	17:17:17 all / <i>tous composants</i>	5980.00	6019.00	5980.33	5955.00	5961.00	5944.00	35839.55
T ₃	19:19:19 all / <i>tous composants</i>	5932.66	5927.00	5991.33	5858.00	5984.33	5904.00	35607.55
T ₄	A. nitrate	5929.33	5994.66	6045.00	6007.33	6093.33	6002.00	36071.94
T ₅	CAN	6008.33	5949.00	6186.00	6025.00	6091.00	6036.00	36295.88
T ₆	A. sulphate	5763.33	5460.33	5952.00	5635.33	5950.66	5862.66	34624.71
T ₇	UG	5856.00	5898.33	6039.33	5943.66	5979.66	5924.66	35641.29
T ₈	U + G	5749.33	5747.66	5901.33	5777.00	5780.33	5846.66	34802.38
T ₉	URP	5559.33	5760.00	5879.33	5647.00	5747.00	5635.33	35227.33
T ₁₀	U + Ele. S	5776.33	5913.00	5940.66	5747.66	5910.00	5898.33	35184.83
T ₁₁	U + Ca (OH) ₂	5727.33	5795.00	5982.00	5907.66	5780.00	5778.33	34970.38
T ₁₂	FYM only / <i>seul</i>	3329.33	3123.66	3322.66	3465.33	3374.66	3343.66	19959.55
'F' test / <i>Test F</i>		*	*	*	*	*	*	*
SEm ±		34.65	43.48	46.19	49.65	50.54	59.74	617.04
CD at 5%		101.63	127.54	135.47	145.62	148.23	175.21	1809.83

A. nitrate: Ammonium nitrate. CAN: Calcium ammonium nitrate. A. sulphate: Ammonium sulphate. UG: Urea gypsum. U + G: Urea + gypsum. URP: Urea rock phosphate. U + Ele. S: Urea + elemental sulphate. U + Ca: Urea + Ca(OH)₂. FYM: Farmyard manure. SEm: Standard error of the mean.
 A. nitrate: Ammonitrate. CAN: Ammonitrate de chaux. A. sulphate: Sulfate d'ammonium. UG: Cristaux d'urée. U + G: Urée + gypse. URP: Phosphate naturel uréique. U + Ele. S: Urée + soufre naturel. U + Ca: Urée + Ca (HO)₂. FYM: Fumier de ferme. SEm: Ecart type de la moyenne.

REFERENCES

- GARRETT M.K. (1987) The rationals for mixed ammonium nitrate, urea fertilizer and assessment of granular products. *Proc. Fertilizer Soc., UK*, 36-39.
- KASIVISWANATHAN K., SITARAMA IYENGAR M.N. (1968) Efficacy of different nitrogenous fertilizers for mulberry. *Indian J. Seric.*, 8, 27-31.
- KRISHNASWAMI S. (1986) Mulberry Cultivation in South India. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, Bull. No. 1, pp. 7-16.
- RAJANNA L., SARATCHANDRA B., DANDIN S.B., PARAMESH C. (1988) Studies on the efficacy of different types of nitrogenous fertilizers on the leaf yield of irrigated mulberry. *Int. Congr. Trop. Seric. Practices*, Central Silk Board, p. 19.
- RAUN N.R., SARNDEN D.H., OLSON R.A. (1989) Nitrogen fertilizer carriers and their placement for minimum till corn under sprinkler irrigation. *Agron. J.*, 81, 280-285.
- SHANKAR M.A. (1990) Nutritional management of mulberry and its effect on silkworm growth, development and silk quality. Ph.D. Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, 410 pp.
- SREENIVASA SHETTY N.K. (1988) Efficacy of ammonium chloride on mulberry in comparison with other nitrogenous fertilizers. M.Sc. (Seric.) Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore.
- TEOTIA R.S., CHOUDHARY S.K., CHINYA P.K. (1992) Studies on effect of CAN on growth and leaf yield of mulberry in acidic soil. *Indian J. Seric.*, 31, 31-36.

EFFET DES ENGRAIS AZOTES SUR LA CROISSANCE ET LE RENDEMENT DU MURIER

S.K. MANJULA & M.A. SHANKAR

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK, Bangalore - 560065, Inde.

Une expérience a été réalisée sur le terrain à la Main Research Station de Hebbal, Bangalore, en 1991-92 afin d'étudier l'effet des engrais azotés sur la croissance et le rendement en feuilles de la variété de mûrier S-54. L'expérience comprend onze sources d'azote et un témoin traité uniquement avec du fumier de ferme. Le rendement en feuilles maximal et la meilleure performance de croissance par rapport au témoin et aux autres sources d'azote ont été enregistrés pour les parcelles de mûrier traitées avec de l'ammonitrate de chaux, de l'ammonitrate et du 15:15:15 NPK (engrais complexe).

INTRODUCTION

Il est admis que l'azote est l'élément nutritif le plus important pour la production de feuilles de mûrier. L'efficacité des engrais azotés est influencée par les sources d'azote et l'interaction de ces sources avec la méthode d'application (Raun et coll., 1989). Chaque source d'azote présente des avantages et des désavantages caractéristiques, mais il n'existe pas une seule forme optimale pour toutes les conditions (Garrett, 1987). Cette expérience a été réalisée dans le but d'étudier l'effet des sources d'engrais azotés et de déterminer les sources les plus appropriées en cas de manque ou d'absence de l'une ou l'autre source.

MATERIELS ET METHODES

Une expérience a été mise en place selon la méthode des blocs aléatoires avec la variété de mûrier S-54 en espacements de 60 × 60 cm sur terrain irrigué dans un sol de sable gras de pH 6,4. L'engrais conventionnel de 280 N, 120 P₂O₅ et 120 K₂O kg/ha/an a été appliqué (Krishnaswami, 1986). L'azote a été appliqué en six doses de 60:40:40:60:40:40 après chaque récolte. Les traitements, ammonitrate (A. nitrate), ammonitrate de chaux (CAN), sulfate d'ammonium (A. sulfate), cristaux d'urée (UG), urée + gypse (U + G), phosphate naturel uréique (URP), urée + soufre naturel (U + Ele. S.) et urée + Ca (OH)₂ (U + Ca(OH)₂), ont été utilisés en fumure de fond et en fumure de surface, tandis que les engrais complexes ont été utilisés uniquement en fumure de fond pour la première et la quatrième récolte et pour la 2e, la 3e, la 5e et la 6e récolte. L'ammonitrate (pour le 15:15:15 NPK) et l'urée (pour le 17:17:17 NPK et le 19:19:19 NPK) ont été utilisés en fumure de surface, le phosphore et le potassium ont été appliqués respectivement sous forme de superphosphate simple et sous forme de chlorure de potasse pour la première et la quatrième récolte, à raison de 60 kg/ha/an chacun en deux doses égales. Les observations sur les paramètres de croissance (nombre de pousses par plant, hauteur de la pousse et nombre de feuilles par plant) ont été relevées à intervalles réguliers. De plus, le rendement en feuilles par hectare a été calculé d'après le rendement net en feuilles de la parcelle et exprimé sur la base d'un hectare.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le nombre de pousses par plant diffère de manière significative au 60^e jour pour tous les traitements par rapport au témoin traité avec du fumier de ferme (8,46) (Tableau I). Les traitements à l'ammonitrate de chaux (12,03) et à l'ammonitrate (11,69) donnent des résultats comparables et nettement supérieurs à ceux obtenus avec les autres traitements pour le nombre de pousses par plant.

Les parcelles traitées avec des engrais azotés donnent des hauteurs de pousses moyennes nettement plus élevées que les parcelles témoins traitées au fumier de ferme (55,93 cm) (Tableau II). Parmi les sources d'engrais azotés, l'ammonitrate de chaux (88,94 cm) donne des résultats comparables à ceux obtenus avec le 15:15:15 NPK (84,83 cm). Néanmoins, les cristaux d'urée (84,87 cm) et l'ammonitrate (84,39 cm) donnent des hauteurs de pousses moyennes nettement plus élevées que les autres sources d'azote.

Parmi les traitements, l'ammonitrate de chaux (119,89), l'ammonitrate (115,83) et le 15:15:15 NPK (113,58) donnent des nombres de feuilles par plant significativement supérieurs à ceux obtenus avec toutes les autres sources d'engrais azotés (Tableau III).

Les traitements 15:15:15 NPK (211,68 g), 17:17:17 NPK (215,91 g), 19:19:19 NPK (208,05 g), l'ammonitrate et l'ammonitrate de chaux (215,96 g) donnent des rendements en feuilles moyens sur six récoltes nettement supérieurs à ceux obtenus avec les autres sources d'azote (Tableau IV).

Le rendement en feuilles diffère de manière significative entre les six récoltes (Tableau V). Les rendements les plus élevés sont obtenus avec les traitements 15:15:15 NPK (36 863 kg/ha/an), l'ammonitrate de chaux (36 295 kg/ha/an) et l'ammonitrate (36 071 kg/ha/an) et sont comparables à ceux obtenus avec les autres sources d'azote, sauf le témoin à base de fumier de ferme (19 959 kg/ha/an). Le sulfate d'ammonium (34 624 kg/ha/an), l'urée + gypse (34 802 kg/ha/an) et l'urée + Ca (OH)₂ (34 970 kg/ha/an) donnent un rendement total en feuilles par hectare nettement inférieur.

La performance supérieure, obtenue avec les engrais azotés et particulièrement l'ammonitrate de chaux, l'ammonitrate et les engrais complexes pour ce qui concerne l'augmentation du rendement total en feuilles par rapport au témoin et aux autres sources d'azote, est confirmée par les résultats des autres facteurs de croissance comme le nombre de feuilles par plant, la hauteur de la pousse, le nombre de pousses par plant et le rendement en feuilles par plant qui contribuent au développement général du plant et des attributs de la croissance, comme le montre l'observation périodique des six récoltes, et de ce fait contribue à une augmentation du rendement en feuilles chez ces traitements. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Rajanna et coll. (1988), Shankar (1990) et Teotia et coll. (1992) qui ont également observé une amélioration significative du rendement en feuilles et des autres paramètres de croissance après application d'ammonitrate de chaux puis d'urée et autres engrais. De plus, Sreenivasa Shetty (1988) a également observé que l'application de l'engrais complexe NPK 15:15:15, puis de chlorure d'ammonium et de sulfate d'ammonium chez le mûrier entraîne une augmentation de 15 à 18 % du rendement en feuilles/ha et une amélioration significative de la hauteur du plant et du nombre de feuilles. Cette étude montre donc clairement que l'ammonitrate de chaux, l'ammonitrate ou l'engrais complexe NPK 15:15:15 peuvent être indifféremment utilisés comme source d'azote car ils améliorent effectivement la croissance et le rendement chez le mûrier.

SCREENING OF MULBERRY VARIETIES FOR SALINE TOLERANCE

P. AGASTIAN SIMYON THEODER, D. DORCUS & M. VIVEKANANDAN

Department of Biotechnology, School of Life Sciences, Bharathidasan University,
Tiruchirapalli - 620 024, Tamil Nadu, India.

To identify a suitable saline-tolerant mulberry strain, different varieties (C-1, C-20, Kosen, Ichinose, BC2-59, Tr-4, Tr-8, Tr-10, S-30, S-36, S-41, S-54, MR-2 and M-5) were planted in the coastal saline area of Vedaranniyam, Tamil Nadu, India. Physical and chemical analyses of the soil and irrigation water were carried out. The sprouting and rooting percentages as well as agrobotanical traits such as plant height, number of branches per plant, average branch height, number of branches per plant, average branch height, internodal distance, leaf number per meter, total leaf number per plant, leaf fall percentage, single leaf fresh weight and dry weight, leaf area and total leaf productivity per plant were analysed. In addition, leaf moisture percentage, relative water content, average water loss of the leaves were also studied. The agrobotanical characters revealed that S-36, S-30 and BC2-59 were superior to the other varieties; triploids performed moderately, S-54 and Kosen performed poorly. Water loss was comparatively lower in MR-2, S-30 and BC2-59. The relative water content was higher in Tr-8 and S-54 but lower in MR-2 and Tr-4. M-5 and S-36 were found to be intermediate. From the overall perusal of the data, inclusive of agrobotanical traits, the number of mulberry varieties employed so far could be arranged in the following hierarchy: S-36 > S-30 > BC2-59 > Tr-4 > Tr-10 > S-41 > C-1 > Tr-8 > MR-2 > M-5 > S-54 > Kosen > C-20 > Ichinose.

Keywords: Saline tolerance, physico-chemical analysis of saline soil, triploid mulberry variety, agrobotanical characters.

INTRODUCTION

Mulberry cultivation involves judicious farming practices. The soils in which mulberry is grown are mostly alluvial and volcanic types (Rangaswamy *et al.*, 1976). Efforts are made to establish sericulture on war footing in Tamil Nadu to boost silk production. Not only escalation of growing mulberry in other agricultural lands would solve the problem but also there is an impending necessity to exploit saline soil for mulberry cultivation, as salinity is considered as one of the major problems in India and moreover, the area of saline soil increases year after year. Nearly 4 million hectares of land in India are subjected to salt water inundation from the adjoining sea and crop yields are greatly affected in these areas (Bernstein, 1964). Salinity becomes a major hazard in agriculture farming, leading to a drastic decrease in productivity (Abood, 1981; Malofeev *et al.*, 1982; Patil *et al.*, 1983; Gill, 1987).

Vedaranniyam is one of the major salt-producing centres of India. The salt swamps are hardly 2-3 km away from the sericultural villages. The adversity of sericulture in saline environment was amply described by Tomy Philip *et al.* (1989). Therefore, the present study of investigation centres on the effects of salinity on cultivation of different mulberry varieties in non-traditional areas like the saline soils of Vedaranniyam to evolve an ideal variety for saline tolerance following the agrobotanical traits that optimise leaf yield.

MATERIALS AND METHODS

Different mulberry varieties (C-1, C-20, Kosen, Ichinose, BC2-59, Tr-4, Tr-8, Tr-10, S-30, S-36, S-41, S-54, MR-2 and M-5) collected from various sericulture research stations in India were planted during the month of December in well dressed, ploughed and manured (farmyard manure: 1000 tonnes/hectare, prescribed by Asst. Soil Chemist, Trichy) saline soil of Vedaranniyam at 3' x 3' distance between the plants and the rows (Krishnaswamy, 1978). Irrigation was done twice a week. All the mulberry varieties used were diploids except Tr-4, Tr-8 and Tr-10 (triploids).

Soil physical properties such as bulk density, specific gravity, pore space volume, percentage of pore space and moisture percentage were investigated according to Saxena (1987). Chemical analyses like pH, electric conductivity (EC), total alkalinity, total hardness of water, NPK (macronutrients) and Fe, Cu, Zn and Mn (micronutrients) of the soil as well as Na, K, Ca, Mg, Cl^- , HCO_3^- and SO_4^{2-} were carried out (Jackson, 1967) in both the soil extract and the irrigation water of the experimental field.

Similarly, a control field with no report on salinity (pH 8.0 and EC 0.60 mS/cm) was maintained at Bharathidasan University, Tiruchirapalli, Tamil Nadu, India.

The sprouting and rooting percentages were observed in three-month-old mulberry varieties. In six-month-old plants, agrobotanical traits such as plant height, average branch height, number of branches per plant, internodal distance, leaf number per meter length, total leaf number per plant, leaf fall percentage, single leaf fresh and dry weights, leaf area and total leaf productivity per plant were analysed (Bari *et al.*, 1989). Water-related parameters such as leaf moisture percentage, relative water content (Turner, 1981) and average loss of leaves were studied using leaves of the fifth node.

RESULTS AND DISCUSSION

A suitable saline area was chosen based on the EC values. The EC of the soil in the experimental field ranged from 0.75-1.00 mS.cm⁻¹ and in the irrigation water from 3.00-4.30 mS.cm⁻¹. The pH values of the soil were 7.5-8.0 and 8.2-8.6 for irrigation water. The physical parameters of the soil revealed that the soil was sandy, loose and gritty, with excessive internal drainage and a bulk density of 1.30-1.50 g/cm³, specific gravity of 2.5-3.2 g/cm³, pore space volume of 10-13 ml, percentage of pore space of 45-50% and moisture percentage of 30-40%. The chemical analyses of the soil and irrigation water are tabulated (Table I). Due to the sandy nature and higher porosity of the soil, the percolation of water was more with poor adherence of salts to the soil particles. Therefore, the upper layers (up to 4 feet) always contained poor EC values. The EC value of the irrigation water was considered for the screening of the mulberry varieties for saline tolerance.

When the three-month-old saplings were analysed, 94-98% sprouting and rooting was observed in S-36, S-30, Tr-4 and Tr-10, followed by BC2-59, MR-2, M-5, S-41 and Tr-8. Poor rooting was observed in S-54 and Kosen. Because of poor sprouting and rooting performance, C-20 and Ichinose were not considered for further study of their agrobotanical traits and leaf keeping quality. Poor rooting may be due to salinity effects on metabolism that inhibit germination of plants (Khondekar, 1985).

Agrobotanical characters were studied in six-month-old plants during the month of June 1992. The mean values obtained for all characters are presented in Table II. The maximum plant height was attained in S-36, Tr-10 and Tr-4 (154-184 cm). A significant growth reduction was observed in Kosen and S-54 (57-68 cm). The plant height was intermediate in BC2-59 and S-30 (110-135 cm). The average branch height was higher in S-36, BC2-59 and Tr-4 (111-121 cm). The number of branches per plant was more in BC2-59, Tr-8, MR-2 and S-41 (4-5). The internodal distance was shorter in S-30 and S-36 (1.96-2.44 cm) but longer in M-5, BC2-59 and Tr-10 (3.90-4.08 cm). S-36, Tr-10, S-30 and Tr-4 produced a larger number of leaves per plant (85-101). The least leaf number was observed in Kosen (32 leaves/plant). A greater leaf fall was observed in Kosen, Tr-8 and C-1 varieties, whereas S-30 and S-36 showed a lower leaf fall percentage. The total leaf productivity was more in BC2-59 and Tr-4 (6043-6683 kg/hectare). A significant reduction in productivity was observed in S-54 and Kosen (1032-2302 kg/hectare).

Table I. Chemical analyses of the mulberry garden soil and irrigation water at Vedaranniyam (Sembodai) (Jackson, 1967).

Tableau I. Analyses chimiques du sol et de l'eau d'irrigation de la plantation de mûrier à Vedaranniyam (Sembodai) (Jackson, 1967).

Sl no. N° d'ordre	Parameters Paramètres	Soil Sol	Irrigation water Eau d'irrigation
1	pH	7.92 ± 0.30	8.3 ± 0.25
2	EC	0.755 ± 0.27 mS.cm ⁻¹	3.65 ± 0.65 mS.cm ⁻¹
3	Potassium	1.36 ± 0.10 kg/ha	51.5 ± 7.06 ppm
4	Nitrogen / Azote	0.75 ± 0.07 kg/ha	ND
5	Phosphorus / Phosphore	0.13 ± 0.01 kg/ha	ND
6	Total alkalinity / Alcalinité totale	0.0177 ± 0.0056 mg.g ⁻¹	91.12 ± 4.53 mg/l
7	Sodium	25.00 ± 3.21 µg.g ⁻¹	176 ± 15.35 ppm
8	Calcium	5.10 ± 0.90 µg.g ⁻¹	280 ± 30 mg/l
9	Magnesium / Magnésium	2.27 ± 0.39 µg.g ⁻¹	163 ± 23 mg/l
10	Chlorides / Chlorures	176.90 ± 14.3 µg.g ⁻¹	273 ± 57 mg/l
11	Sulphates / Sulfates	170.02 ± 22.63 µg.g ⁻¹	67.00 ± 2.59 mg/l
12	Bicarbonates	ND	0.85 ± 0.13 mg/l
13	Total hardness as CaCO ₃ / Dureté totale CaCO ₃	ND	1350 ± 90 mg/l
14	Total organic carbon / Carbone organique total	0.18 ± 0.004%	ND
15	Iron / Fer	4.34 ± 0.49 ppm	ND
16	Zinc	1.18 ± 0.19 ppm	ND
17	Manganese / Manganèse	3.16 ± 0.32 ppm	ND
18	Copper / Cuivre	0.46 ± 0.15 ppm	ND

ND: Not determined / Non déterminé.

±: Standard deviation / Ecart type (n = 5).

The average leaf area of the fifth node was greater in C-1, BC2-59 and Tr-4 (146-234 cm²). The leaf area was reduced significantly in Kosen (59 cm²). Such observations were also made by Sharma and Gupta (1987) and Ramana and Ramadas (1978) in their studies on maize and radish respectively.

Regarding leaf keeping quality parameters, the fresh and dry weights of a single leaf were higher in C-1 and BC2-59 but poor in Kosen. Tr-4, Kosen, S-41 and BC2-59 contained a high leaf moisture percentage (71-76%), whereas MR-2 showed a low moisture percentage (56%). Water loss was highest in Tr-4 and lowest in MR-2.

Although C-1 was found to be higher in leaf fresh and dry weights and leaf area, the total leaf productivity was lowered because of the longer internodal distances and higher leaf fall percentage with comparatively lower number of branches as well as total number of leaves per plant. Triploids were found to be superior in sprouting, rooting, plant height and total number of leaves per plant. But the leaf area, fresh and dry weights of leaves and greater water loss revealed that triploids are only intermediate in performance. S-36, S-30 and BC2-59 were found to be superior because of their maximum plant height, higher number of leaves per plant, shorter internodal distance, total leaf productivity per plant, lower leaf fall percentage and higher leaf keeping quality parameters.

Under salinity, Kosen and S-54 showed poor performance, compared to the plants maintained in normal soil in parameters like leaf yield and leaf keeping quality. The performance of Tr-8 was not satisfactory both under saline and control conditions compared to the other varieties. In most of the

Table II. Agrobotanical traits of different mulberry varieties grown in the saline area of Vedaranniyam (Sembodai) with the control at Bharathidasan University, Tiruchirapalli.

Tableau II. Caractères agro-botaniques de différentes variétés de mûrier cultivées dans la région saline de Vedaranniyam (Sembodai) et en sol témoin à l'Université de Bharathidasan, Tiruchirapalli.

Mulberry varieties	Plant height (cm)		Average branch height (cm)		Number of branches/plant		Internodal distance (cm)		Leaf number/meter length		Total number of leaves/plant		Total leaf productivity (kg/ha)	
Variétés de mûrier	Hauteur du plant (cm)		Hauteur moyenne des branches (cm)		Nombre de branches par plant		Distance internodale (cm)		Nombre de feuilles par mètre		Nombre total de feuilles par plant		Productivité foliaire totale (kg/ha)	
	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S
M-5	129.0	140.8	102.0	95.2	4.5	3.8	3.4	4.2	30.75	27.00	78.2	79.2	2768	3435
C-1	145.0	126.4	112.2	85.9	3.0	3.0	4.6	3.5	28.00	28.75	57.8	58.4	3347	5355
Kosen	144.2	57.2	109.0	41.7	5.0	2.8	2.7	2.7	40.25	28.20	93.8	32.1	2570	1032
BC2-59	118.6	154.0	98.2	113.0	3.0	5.3	3.3	4.0	29.75	26.00	63.0	66.0	5084	6683
MR-2	134.0	152.3	101.0	87.8	6.0	5.0	3.2	3.6	32.25	32.20	99.8	90.0	2949	2970
Tr-4	152.6	176.0	116.7	111.8	5.0	3.2	4.2	3.3	28.14	30.83	87.6	86.0	3009	6043
Tr-8	115.0	80.6	77.0	62.2	2.0	5.4	3.9	3.2	31.10	28.00	48.0	65.2	1973	3658
Tr-10	142.1	179.6	123.0	109.2	4.5	3.8	4.2	4.0	28.00	31.60	81.8	93.4	3546	5070
S-30	128.4	136.4	110.4	83.4	3.2	3.6	2.8	2.0	35.57	35.60	75.0	86.4	4005	5288
S-36	100.2	183.8	92.0	121.5	4.0	3.2	3.0	2.4	34.29	37.60	70.5	101.2	2030	5525
S-41	112.6	121.8	98.7	63.7	4.0	4.8	4.7	2.4	26.43	33.60	63.0	82.8	2145	3364
S-54	123.0	68.3	108.0	60.0	3.5	4.8	3.4	3.2	29.80	30.00	78.6	59.9	3737	2302
Mean CV%	7.1	17.2	7.4	11.9	14.8	19.0	11.2	4.4	4.0	12.1	4.9	11.8	7.2	6.3

C: Contrôle / Témoin.

S: Saline / Terre saline.

(n = 10)

Mean CV%: Mean coefficient of variation / Coefficient de variation moyen.

Continued / Suite page suivante

Table II. Continued / *Tableau II. Suite*

Mulberry varieties	Leaf fall percentage		Leaf area (cm ²)		Single leaf fresh weight (g)		Single leaf dry weight (g)		Leaf moisture percentage		Average water loss (%)		Relative water content (%)	
<i>Variétés de mûrier</i>	<i>Pourcentage de défoliation</i>		<i>Surface foliaire (cm²)</i>		<i>Poids humide d'une feuille (g)</i>		<i>Poids sec d'une feuille (g)</i>		<i>Pourcentage d'eau de la feuille</i>		<i>Perte moyenne d'eau (%)</i>		<i>Contenu relatif en eau (%)</i>	
	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S
M-5	13.54	17.50	123.4	96.1	2.36	3.11	0.78	0.80	66.95	67.31	40.36	65.14	57.01	53.07
C-1	22.35	21.27	177.9	234.4	3.86	8.43	1.35	2.43	65.03	70.92	42.55	61.49	57.57	54.71
Kosen	4.56	29.68	162.8	59.1	2.74	2.12	0.64	0.54	76.64	74.97	29.81	63.85	64.45	57.72
BC2-59	4.38	19.02	214.6	186.9	5.38	6.75	1.43	1.90	73.42	71.68	36.13	60.60	68.13	59.93
MR-2	9.15	15.40	129.9	94.7	1.97	2.76	0.58	0.69	70.56	56.68	38.70	55.07	63.18	45.94
Tr-4	10.76	19.21	137.3	146.9	2.29	5.21	0.90	1.21	60.73	76.67	44.62	69.43	63.60	41.15
Tr-8	18.31	24.01	114.8	126.4	2.74	3.74	0.92	1.03	66.42	71.24	44.35	67.67	59.77	63.51
Tr-10	12.29	14.60	151.9	106.2	2.89	3.62	1.11	1.04	61.59	71.23	43.10	65.49	62.25	48.84
S-30	11.23	15.17	145.4	125.3	3.56	4.08	0.87	1.17	75.56	71.40	37.53	59.08	55.12	52.00
S-36	22.07	12.02	136.9	113.4	1.92	3.64	0.56	1.07	70.83	70.43	42.00	62.49	55.37	53.76
S-41	16.00	18.74	138.4	88.8	2.27	2.71	0.68	0.68	70.04	74.87	47.33	66.08	46.57	61.81
S-54	12.58	15.41	125.7	83.7	4.17	2.74	1.16	0.77	72.18	70.96	40.37	63.51	58.66	63.37
Mean CV%	13.1	19.7	8.6	13.5	16.2	11.3	16.4	13.5	4.5	2.8	9.2	4.8	7.6	3.9

C: Contrôle / *Témoin*.S: Saline / *Terre saline*.

(n = 10)

Mean CV %: Mean coefficient of variation / *Coefficient de variation moyen*.

agrobotanical characters, BC2-59 and S-30 did not show any significant difference irrespective of the soils in which they were grown. Comparatively, in all mulberry varieties leaf fresh weight and leaf productivity were greater under saline conditions. The results were similar to the findings of Heikal *et al.* (1980) and Sathiyamoorthy and Vivekanandan (1988) in oil seeds and soybean, respectively. Leaf fall and water loss percentages were higher in the saline region.

As another phase of the present investigation, chemo-assay of the promising mulberry varieties will also be carried out as mulberry leaves form the only chief food plant of *Bombyx mori* L. Such a study would also reveal if there is any nutritional setback as a result of growing mulberry in a saline environment.

ACKNOWLEDGEMENTS

We gratefully acknowledge the financial help provided by the Central Silk Board, Bangalore, (Ref. No. CSB: 46/107(2)/90-91-TS).

REFERENCES

- ABOOD M.A.B. (1981) Analysis of corn yield components for salinity and moisture treatments. *Crop Physiol.*, 7, 871.
- BARI M.A., QAIYYUM M.A., AHMED S.U. (1989) Correlation studies in mulberry (*Morus alba* L.). *Indian J. Seric.*, 28, 11-16.
- BERNSTEIN L. (1964) Effects of salinity on mineral composition and growth of plants. *Plants Anal. Fert. Prob.*, 4, 25-45.
- GILL K.S. (1987) Effect of salinity on dry matter production and some physiological parameters at the vegetative growth stage in Bajra genotypes. *Plant Physiol. and Biochem.*, 14(1), 82-86.
- HEIKAL M.M., AHMED A.M., SHADDAD M.A. (1980) Changes in dry weight and mineral composition of oil producing plants over a range of salinity stresses. *Biologia Plant.*, 22, 25-33.
- JACKSON M.D. (1967) *Soil Chemical Analyses*. Prentice Hall of India, Pvt. Ltd., New Delhi.
- KHONDEKAR A.R. (1985) The effect of NaCl and Na₂SO₄ of different concentrations on the growth and yield of *Vicia faba* L. applied at four growing stages. *Crop Physiol.*, 11, 398.
- KRISHNASWAMY S. (1978) Mulberry cultivation in south India. Central Sericultural Research and Training Institute, Bulletin no. 1, Mysore, India.
- MALOFEEV V.M., AFANASEV V.P., SHURAVITIN A.V. (1982) A comparative investigation of cotton irrigation with waters of different salinity. *Crop Physiol.*, 8, 59.
- PATIL T.M., MIRAJKAR P.B., HEDGE B.A., JOSHI G.V. (1983) Influence of soil salinity on morphology, carbon assimilation and enzyme activities in a sorghum hybrid CSH-5. *Indian J. Plant Physiol.*, 26, 155-166.
- RAMANA K.V.R., RAMADAS V.S. (1978) Physiological studies on the influence of salinity and alkalinity of radish (*Raphanus sativus*). *Indian J. Plant Physiol.*, 21, 93-105.
- RANGASWAMY G., NARASIMHANNA M.N., KASIVISWANATHAN K., SASTRY C.R., JOLLY M.S. (1976) *Sericulture manual, mulberry cultivation*. pp. 1-12.
- SATHIYAMOORTHY P., VIVEKANANDAN M. (1988) Cumulative effects of pre-sowing seed treatment and foliar application of salts in improving biomass and grain yield of soybean. *J. Crop Sci. and Agron.*, 101, 107-114.
- SAXENA M.M. (1987) *Environmental Analyses — Water, Soil and Air*. Agrobotanical Publishers, India.
- SHARMA S.K., GUPTA I.C. (1987) Effect of salinity on vegetative growth. *In Saline Environment and Plant Growth*. p. 53.
- TOMY PHILIP, VEERARAH T.M., THANGAVELU K. (1989) Sericulture in Vedaranniyam triumphs over adversity but still faces more challenges. *Indian Silk*, Nov., 23-25.
- TURNER C.N. (1981) Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water stress. *Plant and Soil*, 58, 339-366.

SELECTION DE VARIETES DE MURIER TOLERANTES A LA SALINITE

P. AGASTIAN SIMIYON THEODER, D. DORCUS & M. VIVEKANANDAN

Department of Biotechnology, School of Life Sciences, Bharatidasan University,
Tiruchirapalli - 620 024, Tamil Nadu, Inde.

Afin d'identifier une souche de mûrier tolérante à la salinité, plusieurs variétés (C-1, C-20, Kosen, Ichinose, BC2-59, Tr-4, Tr-8, Tr-10, S-30, S-36, S-41, S-54, MR-2 et M-6) ont été plantées dans la zone côtière saline de Vedaranniyam (Tamil Nadu, Inde). Des analyses physiques et chimiques du sol et de l'eau d'irrigation ont été réalisées. On a étudié les pourcentages de bourgeonnement et de racinement ainsi que certains caractères agro-botaniques comme la hauteur du plant, le nombre de branches par plant, la hauteur moyenne d'une branche, la distance internodale, le nombre de feuilles par mètre, le pourcentage de défoliation, les poids sec et frais d'une feuille, la surface foliaire et la productivité foliaire totale par plant. En outre, le pourcentage d'eau des feuilles, le contenu relatif en eau, le taux de perte moyenne en eau des feuilles ont également été étudiés. L'analyse des caractères agro-botaniques montre que S-36, S-30 et BC2-59 sont supérieures aux autres variétés ; les triploïdes donnent des performances intermédiaires et S-54 et Kosen donnent des performances médiocres. La perte d'eau est comparativement plus faible chez MR-2, S-30 et BC2-59. Le contenu relatif en eau est plus élevé chez Tr-8 et chez S-54 mais plus faible chez MR-2 et Tr-4, M-5 et S-36 se situent au niveau intermédiaire. La lecture globale des données, y compris celles concernant les caractères agro-botaniques, révèle que les variétés de mûrier utilisées ici peuvent être classées dans l'ordre de performance suivant : S-36 > S-30 > BC2-59 > Tr-4 > Tr-10 > S-41 > C-1 > Tr-8 > MR-2 > M-5 > S-54 > Kosen > C-20 > Ichinose.

INTRODUCTION

La culture du mûrier présuppose des pratiques agronomiques appropriées. Les sols utilisés pour la culture du mûrier sont principalement de type alluvial et volcanique (Rangaswamy et coll., 1976). Dans le Tamil Nadu, des efforts importants sont mis en oeuvre pour mettre la sériciculture sur le pied de guerre et relancer la production de soie. Outre l'élargissement de la culture du mûrier à d'autres zones agricoles qui permettrait de résoudre ce problème, il devient indispensable d'utiliser les zones salines pour la culture du mûrier car la salinité, dont l'étendue s'accroît d'année en année, est considérée comme l'un des problèmes majeurs en Inde. Près de quatre millions d'hectares de terre sont submergées régulièrement par l'eau des mers avoisinantes, ce qui affecte fortement les rendements dans ces zones (Bernstein, 1964). La salinité est devenu un fléau majeur en agriculture car elle entraîne une chute colossale de la productivité (Abood, 1981 ; Malofcev et coll., 1982 ; Patil et coll., 1983 ; Gill, 1987).

Vedaranniyam est l'un des principaux centres de production de sel d'Inde. Les marais salins sont situés à moins de deux ou trois kilomètres des villages séricicoles. Les effets nocifs de la salinité sur la sériciculture ont été décrits de manière approfondie par Tomy Philip et coll. (1989). Notre étude porte sur les effets de la salinité sur différentes variétés de mûrier cultivées en zones non traditionnelles comme les sols salins de Vedaranniyam afin d'isoler une variété adaptée et tolérante à la salinité en fonction des caractères agro-botaniques contribuant au rendement en feuilles.

MATERIELS ET METHODES

Plusieurs variétés de mûrier (C-1, C-20, Kosen, Ichinose, BC2-59, Tr-4, Tr-8, Tr-10, S-30, S-36, S-41, S-54, MR-2 et M-5) provenant de diverses stations indiennes de recherche séricicole ont été plantées au cours du mois de décembre dans des parcelles préparées, labourées et amendées (fumier de ferme à raison de 1 000 tonnes/hectare, dose recommandées par l'*Assistant Soil Chemist*, Trichy) du sol salin de Vedaranniyam à intervalles de 3' x 3' entre les plants et les rangées (Krishnaswamy, 1978). L'irrigation a été réalisée deux fois par semaine. Toutes les variétés de mûrier utilisées sont des diploïdes sauf Tr-4, Tr-8 et Tr-10 (triploïdes).

Les propriétés physiques du sol, comprenant la densité de masse, le poids spécifique, le volume des espaces lacunaires, le pourcentage d'espaces lacunaires et le pourcentage d'humidité, ont été analysées d'après la méthode de Saxena (1987). Les analyses chimiques du sol portant sur le pH, la conductivité électrique, l'alcalinité totale, la dureté totale de l'eau, le contenu en NPK (macronutriments) et en Fe, Cu, Zn et Mn (oligo-éléments) ont été réalisées sur des extraits de sol et sur l'eau d'irrigation de la parcelle expérimentale (Jackson, 1967).

Parallèlement, une parcelle témoin exempte de sel (pH 8,0 et conductivité électrique 0.60 mS/cm) a été maintenue à l'Université de Bharathidasan (Tiruchirapalli, Tamil Nadu, Inde).

Les pourcentages de bourgeonnement et de racinement ont été relevés chez des plants âgés de trois mois. Les caractères agro-botaniques (hauteur du plant, hauteur moyenne d'une branche, nombre de branches par plant, distance internodale, nombre de feuilles par mètre, nombre total de feuilles par plant, pourcentage de défoliation, poids sec et frais d'une feuille, surface foliaire et productivité foliaire totale par plant) ont été analysés sur des plants âgés de six mois (Bari et coll., 1989). Les paramètres relatifs à l'eau (pourcentage d'humidité des feuilles, contenu relatif en eau (Turner, 1981) et perte moyenne d'eau des feuilles) ont été étudiés sur les feuilles du cinquième noeud.

RESULTATS ET DISCUSSION

La zone présentant le taux recherché de salinité a été sélectionnée sur la base des valeurs de la conductivité électrique du sol. La conductivité électrique de la parcelle expérimentale se situe entre 0,75 et 1,00 mS/cm et celle de l'eau d'irrigation entre 3,00 et 4,30 mS/cm. Les valeurs du pH sont de 7,5 à 8,0 pour le sol et de 8,2 à 8,6 pour l'eau d'irrigation. L'analyse des paramètres physiques révèle que le sol est de type sableux, peu dense et gréseux avec un écoulement interne excessif ; la densité se situe entre 1,30 et 1,50 g/cm³, le poids spécifique est de 2,5 à 3,2 g/cm³, le volume des espaces lacunaires est de 10 à 13 ml, le pourcentage d'espaces lacunaires est de 45 à 50 % et le pourcentage d'eau de 30 à 40 %. Les résultats des analyses chimiques du sol et de l'eau d'irrigation sont présentés dans le tableau I. En raison de la nature sableuse et de la porosité élevée du sol, la circulation de l'eau est plus importante et l'adhésion des sels aux particules du sol est médiocre. Les couches supérieures (jusqu'à 4 pieds – soit 1,20 m – de profondeur) présentent systématiquement des valeurs plus faibles pour la conductivité électrique. La conductivité électrique de l'eau d'irrigation a été prise en considération pour la sélection des variétés de mûrier tolérantes à la salinité.

L'analyse des plantules âgées de trois mois révèle des pourcentages de bourgeonnement et de racinement de 94 à 98 % chez S-36, S-30, Tr-4 et Tr-10, devant BC2-59, MR-2, M-5, S-41 et Tr-8. Un pourcentage de racinement faible a été observé chez S-54 et Kosen. Les variétés C-20 et Ichinose n'ont pas été retenues pour l'étude des caractères agro-botaniques et la qualité de préservation des feuilles du fait de leurs performances médiocres pour le bourgeonnement et le racinement. Le mauvais racinement pourrait être dû à des effets de la salinité sur le métabolisme inhibant la germination des plants (Khondkar, 1985).

Les caractères agro-botaniques ont été étudiés chez des plants âgés de six mois en juin 1992. Les valeurs moyennes obtenues pour tous les caractères sont présentées dans le tableau II. La hauteur du plant est maximale chez S-36, Tr-10 et Tr-4 (154 à 184 cm). Une diminution significative de la croissance a été observée chez Kosen et S-54 (57 à 68 cm). La hauteur du plant est intermédiaire chez BC2-59 et S-30 (110 à 135 cm). La longueur moyenne d'une branche est plus élevée chez S-36, BC2-59 et Tr-4 (111 à 121 cm). Le nombre de branches par plant est plus élevé chez BC2-59, Tr-8, MR-2 et S-41 (4 à 5). La distance internodale est plus faible chez S-30 et S-36 (1,96 à 2,44 cm) mais

plus élevée chez M-5, BC2-59 et Tr-10 (3,90 à 4,08 cm). Les variétés S-36, Tr-10, S-30 et Tr-4 produisent davantage de feuilles par plant (85 à 101). Le nombre de feuilles le plus faible a été observé chez Kosen (32 feuilles par plant). Une défoliation plus importante a été relevée chez Kosen, Tr-8 et C-1, tandis que S-30 et S-36 présente un pourcentage de défoliation relativement faible. La productivité foliaire totale est plus élevée chez BC2-59 et Tr-4 (6 043 à 6683 kg/hectare). Une diminution significative de la productivité a été observée chez S-54 et Kosen (2 302 et 1 032 kg/hectare).

La surface foliaire moyenne du cinquième noeud est plus importante chez C-1, BC2-59 et Tr-4 (146 à 234 cm²). La surface foliaire diminue de manière significative chez Kosen (59 cm²). Des observations similaires ont été faites par Sharma et Gupta (1987) chez le maïs et par Ramana et Ramadas (1978) chez le radis.

Pour ce qui concerne les caractères de conservation de la qualité des feuilles, les poids sec et frais d'une feuille sont plus élevés chez C-1 et BC2-59 mais ils sont médiocres chez Kosen. Le pourcentage d'eau des feuilles est élevé chez Tr-4, Kosen, S-41 et BC2-59 (71 à 76 %) et faible chez MR-2 (56 %). La perte d'eau est maximale chez Tr-4 et minimale chez MR-2.

Bien que C-1 donne des résultats supérieurs pour les poids sec et frais de la feuille et la surface foliaire, sa productivité foliaire totale est plus faible car cette variété présente des distances internodales et un pourcentage de défoliation plus élevés ainsi qu'un nombre de branches et un nombre total de feuilles par plant plus faibles. Les triploïdes sont supérieurs pour ce qui concerne le bourgeonnement, le racinement, la hauteur du plant et le nombre total de feuilles par plant. Cependant, la surface foliaire, les poids sec et frais des feuilles et la perte d'eau élevée révèlent que les triploïdes se situent seulement à un niveau intermédiaire. Les variétés S-36, S-30 et BC2-59 s'avèrent supérieures car elles donnent de meilleurs résultats pour la hauteur du plant, le nombre de feuilles par plant, le pourcentage de défoliation et les paramètres de conservation de la qualité de la feuille.

En milieu salin, Kosen et S-54 donnent des performances médiocres par rapport aux plants maintenus en sol témoin pour les paramètres concernant le rendement en feuilles et la conservation de la qualité des feuilles. La performance de Tr-8 n'est satisfaisante ni en milieu salin ni en milieu témoin par rapport aux autres variétés. Pour la plupart des caractères agro-botaniques, BC2-59 et S-30 ne présentent pas de différence significative entre les milieux de culture. Par comparaison, chez toutes les variétés de mûrier, le poids frais des feuilles et la productivité foliaire sont supérieurs en milieu salin. Ces résultats sont similaires à ceux de Heikal et coll. (1980) chez la graine de lin et de Sathiyamoorthy et Vivekanandan (1988) chez le soja. Les pourcentages de défoliation et de perte d'eau sont plus élevés en milieu salin.

Dans une deuxième étape, un dosage chimique des variétés de mûrier prometteuses sera réalisé car les feuilles de mûrier constituent la source de nourriture principale de *Bombyx mori* L. Cette étude permettra de mettre en évidence les effets négatifs éventuels de la culture du mûrier en milieu salin sur le nourrissage.

STUDIES ON THE SOLAR ENERGY UTILIZATION OF MULBERRY FIELDS WITH DIFFERENT PLANTING DENSITIES

L. GONG, D.-J. REN & Y. WANG

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, Jiangsu, China.

Leaf yields of Shin Ichinose mulberry fields with different planting densities varied from 4.60-39.38 tonnes.ha⁻¹.yr⁻¹ within the first five years after planting; net primary productivity, from 8-16 tonnes.ha⁻¹.yr⁻¹; the harvest index, from 0.3-0.6; the solar energy utilization ratios, from 0.3-0.7% (over the whole year) and from 0.4-1% (in the growing seasons). Dense planting and postponing summer pruning could increase mulberry leaf yield, heighten the net primary productivity and solar energy utilization ratio of the fields. Yet, dense planting reduced the harvest index.

Keywords: Mulberry, planting density, yield, solar energy utilization ratio, harvest index.

INTRODUCTION

Solar energy utilization by mulberries has long been a subject of research for sericultural experiment institutes. At present, the solar energy utilization ratio of mulberry fields is still low in China. Gong (1980) reported that, in the mulberry growing season, the solar energy utilization ratio of mulberry fields with moderate productivity was only about 0.35% in Jiangsu and Zhejiang Provinces, whereas that of highly yielding mulberry fields (leaf yield reaches 37.5 tonnes.ha⁻¹.yr⁻¹) was merely 1.15%. Therefore, increasing the solar energy utilization by improving cropping systems and cultivation techniques has become essential to studies on mulberry cultivation. Since 1977, we have studied the relationship between solar energy utilization and mulberry yield increasing potential, the structure of mulberry population and various cultivation measures, estimated solar energy utilization ratios of mulberry fields with different productivity in the growing season in China, as well as put forward some ideas about possible ways to heighten the solar energy utilization ratio of mulberry fields (Gong, 1977, 1980, 1981; Gong and Pan, 1980; Gong and Ren, 1989; Ren, 1979; Ren and Gong, 1985, 1986, 1987).

In order to fix solar energy in organic substances, a plant needs to capture and absorb the energy first, and then convert it into chemical energy. The former is closely related to planting densities. Mulberry fields with a reasonable planting density will have an earlier date of canopy closure, being favorable for capturing and absorbing more solar energy. Since 1981, we have been conducting fairly detailed studies on the solar energy utilization of mulberry fields with different planting densities successively over five years. The results are reported herein.

MATERIALS AND METHODS

In the spring of 1981, mulberry fields for the studies were established. The soil of the test field was yellow-brown earth. The pH value was 6-7. The organic matter content was approximately 1%. The previous crop was also mulberry.

Mulberry cv. Shin Ichinose was used. Four planting densities, i.e., 7,500, 15,000, 30,000 and 45,000 plants.ha⁻¹ were implemented. The space between the rows was set at 1.33 m. The spaces between plants were 1.00, 0.50, 0.25 and 0.17 m, respectively. Three replications were set up for each treatment. The plot area was 21.5 m² and each one was surrounded by non-experimental rows.

Before planting, base manure (37.5 tonnes of garbage and 0.375 tonnes of fused calcium-magnesium phosphate per hectare) was applied to the planting ditches. Manuring in the same year after planting was N 0.225 tonne, P₂O₅ 0.09 tonne and K₂O 0.135 tonne per hectare; that in the second year was N 0.45 tonne, P₂O₅ 0.18 tonne and K₂O 0.27 tonne, that from the third year (1983) was N 0.675 tonne, P₂O₅ 0.27 tonne and K₂O 0.405 tonne per hectare per year. For nitrogen, mainly urea and ammonium sulphate were used, for phosphorus and potassium, calcium superphosphate, fused calcium-magnesium phosphate and potassium chloride, etc., were used. Additionally, a certain amount of seedcake fertilizer, compost and pig manure, etc., was applied.

Trees were grown to low-trunk form. Each treatment was divided into two pruning patterns, pattern A, summer pruning from the second year (trees were pruned in the spring of the year of planting followed by pruning in the summer in the following years), and pattern B, pruning from the third year (trees were pruned in the spring of the first two years followed by pruning in the summer in the following years).

For determining dry matter accumulation in mulberry trees, fresh saplings for all plots of one replication were weighed before planting. At the same time, 10 saplings were taken at random for determining the fresh weight of roots, stems and whole plants separately. Then they were dried at 85 °C until their weight was constant. Thus, the dry weight and the dry matter rate were obtained, and also, the dry weight of saplings while planting could be calculated. At the end of 1983 (third year after planting) and 1985 (fifth year after planting), a number of representative plants were selected for determining the dry weight of whole mulberry trees. The methods were as follows: the representative trees were uprooted in winter or in spring prior to bud germination, fresh trunks, branches and roots (air-dried after washing) were weighed, then about 100 grams of roots, trunks and branches were each collected to determine the dry matter rate.

The energy content in various mulberry organs was determined with a heat-insulated calorimeter, Model JR-2800.

Light intensity was determined with a light meter, Model ZF-2. The densities cited in this article were measured during planting.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Dense planting could reduce a loss of light during the early stages of plantation:

In the early stages of mulberry development, loss of light in the mulberry fields was fairly serious due to the thin canopies of the mulberries. As shown in Table I, on July 26 and August 25 of the second year after planting (1982), the percentage of light that penetrated the ground was approximately 32% and 20%, respectively, in mulberry fields with a density of 30,000 plants.ha⁻¹, whereas it was as high as approximately 58% and 32%, respectively, in those of 7,500 plants.ha⁻¹. A loss of light was still obvious up to 1985, indicating that a reasonable increase in the planting density is an efficient way of reducing loss of light and heightening the solar energy utilization ratio in mulberry fields with young trees.

2. Dense planting could raise mulberry leaf yield:

The leaf yields of Shin Ichinose mulberry fields with different planting densities are shown in Table II. Table II indicates that the planting density had the greatest influence on the mulberry leaf yield. Within the range 7,500 to 45,000 plants.ha⁻¹, the denser the plants, the higher the leaf yield. The average annual leaf yields over six years were: 17.15, 22.05, 22.42 and 24.62 tonnes.ha⁻¹ (pattern A) and 18.68, 22.40, 23.49 and 25.03 tonnes.ha⁻¹ (pattern B), depending on the increase in planting densities. The leaf yields of mulberry fields of pattern B were slightly higher than those of pattern A. The difference of leaf yields between different planting densities was very noticeable.

Table I. Leaf area index (LAI) and light loss percentages (LLP) of mulberry fields with different planting densities.

Tableau. Indice de surface foliaire (LAI) et pourcentages de perte de lumière (LLP) dans les mûraies en fonction de la densité de plantation.

Planting density (plants.ha ⁻¹)	Items investigated	1982		1983			1984				1985		
		Jul. 25	Aug. 25	May 25	Jul. 26	Aug. 19	Sept. 20	Jul. 5	Aug. 5	Sept. 5	Oct. 5	May 2	May 22
Densité de plantation (plants/ha)	Paramètres étudiés	1982		1983			1984				1985		
		25 juil.	25 Août	25 mai	26 juil.	19 août	20 sept.	5 juil.	5 août	5 sept.	5 oct.	2 mai	22 mai
7 500	LAI	1.4	2.8	4.6		3.3	4.4	1.1	3.6	7.5	8.5	3.2	5.5
	LLP (%)	58.4	32.2	4.6		4.6	10.0	-	15.8	14.3	-	47.3	9.2
15 000	LAI	2.7	5.1	6.1		6.3	8.8	1.5	5.3	10.0	11.7	4.9	6.3
	LLP (%)	47.9	19.4	4.0	7.6	1.7	3.6	-	14.8	10.2	-	30.7	8.4
30 000	LAI	2.9	5.4	6.9	4.1	6.2	9.8	1.7	5.0	10.1	12.0	4.5	7.6
	LLP (%)	32.2	19.8	3.2	5.0	2.4	4.5	-	9.1	5.9	-	24.2	7.1
45 000	LAI	4.4	6.5	7.4	3.1	9.6	-	-	-	-	-	-	-
	LLP (%)	24.1	14.4	2.6	7.5	1.4	-	-	-	-	-	-	-

3. Dense planting could raise the rate of dry matter production in the field:

Rate of dry matter production refers to the quantity of organic matter produced by unit area of vegetation within a unit of time. It is normally expressed as $\text{tonnes} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{yr}^{-1}$. It is also termed as net primary productivity (NPP) or productivity. The net production (NP) and net primary productivity of Shin Ichinose mulberry cultivation with different planting densities in the first 5 years after planting are shown in Table III. The net primary productivity of the tested mulberry fields varied, with a range of 8-16 $\text{tonnes} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{yr}^{-1}$, being greatly influenced by cultivation measures. Net primary productivity of the first five years of mulberry cultivation of pattern B was 20% higher than that of pattern A; that of dense mulberry fields was higher than that of less dense fields. If the net primary productivity of mulberry fields with a density of 7,500 $\text{plants} \cdot \text{ha}^{-1}$ was regarded as 100%, that of 15,000, 30,000 and 45,000 $\text{plants} \cdot \text{ha}^{-1}$ would be 126%, 138% and 152%, respectively (pattern B), and 136%, 144% and 159%, respectively (pattern A). Nevertheless, the effect of dense planting on increased net primary productivity was greater than postponing the time of summer pruning.

4. Dense planting was likely to reduce mulberry harvest index:

The ratio that the harvested biomass accounts for in the total net production of the mulberry trees is termed as harvest index or economic coefficient. At present, the major objective of growing mulberries is to harvest leaves for raising silkworms. Therefore, the portion that net mulberry leaf yield accounts for in the total net mulberry production can be defined as harvest index. As mulberry net production is increased, heightening the harvest index through improved cultivation measures is of great economic importance.

Table II. Annual leaf yields of mulberry fields with different planting densities.

Tableau II. Rendements annuels des mûraies en feuilles en fonction de la densité de plantation.

Year	Pruning pattern	Planting density ($\text{plants} \cdot \text{ha}^{-1}$)			
		7 500	15 000	30 000	45 000
Année	Type de taille	Densité de plantation (plants/ha)			
		7 500	15 000	30 000	45 000
1981	Pattern A Type A	4.60	7.19	10.34	9.84
1982		14.00	21.98	22.36	27.87
1983		19.65	25.23	24.29	29.14
1984		22.48	26.84	25.51	29.10
1985		20.20	24.99	26.77	27.11
1986		21.98	26.04	25.25	24.65
Total		102.91	132.27	134.52	147.71
1981	Pattern B Type B	4.60	7.19	10.34	9.84
1982		13.38	17.86	18.56	20.84
1983		26.48	32.51	33.00	39.38
1984		24.61	28.04	27.71	31.25
1985		22.55	25.98	26.84	26.34
1986		20.46	22.81	24.47	22.52
Total		112.08	134.39	140.92	150.17

Unit: $\text{tonnes} \cdot \text{ha}^{-1}$ / Unité : tonnes/ha .

Table III. Net production (NP)* and net primary productivity (NPP) of mulberry fields under different planting densities in the first 5 years after planting.**

Tableau III. Production nette (NP) and productivité primaire nette (NPP)** des mûraies en fonction de la densité de plantation dans les cinq années suivant la plantation.*

Planting density (plants.ha ⁻¹)		Leaves		Branches		Trunks		Roots		Total	
		Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A
		<i>Feuilles</i>		<i>Branches</i>		<i>Troncs</i>		<i>Racines</i>		<i>Total</i>	
<i>Densité de plantation</i> (plants/ha)		<i>Type B</i>	<i>Type A</i>	<i>Type B</i>	<i>Type A</i>	<i>Type B</i>	<i>Type A</i>	<i>Type B</i>	<i>Type A</i>	<i>Type B</i>	<i>Type A</i>
7 500	NP	22.90	20.22	18.20	14.48	4.81	2.58	4.66	2.96	50.56	40.24
	NPP	4.58	4.04	3.64	2.90	0.96	0.52	0.93	0.59	10.11	8.05
15 000	NP	27.90	26.55	22.90	18.38	6.74	5.27	6.32	4.71	63.87	54.90
	NPP	5.58	5.31	4.58	3.68	1.35	1.05	1.26	0.94	12.77	10.98
30 000	NP	29.12	27.32	26.05	19.41	7.46	5.66	7.24	5.54	69.87	57.93
	NPP	5.82	5.46	5.21	3.88	1.49	1.13	1.45	1.11	13.97	11.58
45 000	NP	31.92	29.64	28.38	22.98	8.43	5.78	8.00	5.73	76.73	64.12
	NPP	6.38	5.93	5.68	4.60	1.69	1.16	1.66	1.14	15.34	12.83
Average <i>Moyenne</i>	NP	27.96	25.93	23.88	18.81	6.86	4.82	6.56	4.74	65.26	54.30
	NPP	5.59	5.19	4.78	3.76	1.37	0.96	1.31	0.95	13.05	10.86

* Unit of NP: tonnes.ha⁻¹ / *Unité de production nette : tonnes/ha.*

** Unit of NPP: tonnes.ha⁻¹.yr⁻¹ / *Unité de productivité primaire nette : tonnes/ha/an.*

As shown in Table IV, the harvest index of low-trunk mulberries was mostly within the range 0.3 to 0.6. It was not constant but varied with factors such as tree age, planting densities and the starting of summer pruning. Within the first 3 years after planting, mulberries took relatively more photosynthate to establish their body trunks and root systems. Hence, the average harvest index was only 0.366 (pattern B) and 0.442 (pattern A). In the fourth and fifth years, it was much different. At that time, trunks and root systems had already been well established. The biomass of these two organs increased very little. Only the leaves and branches were harvested every year with their biomass rising at a certain rate annually. Therefore, the average harvest index rose to 0.531 (pattern B) and 0.514 (pattern A).

Table IV. Harvest index of Shin Ichinose mulberry fields in the first 5 years after planting.

Tableau IV. Indice de récolte des mûriers de la variété Shin Ichinose dans les 5 années suivant la plantation.

Initial planting density (plants.ha ⁻¹)	1981-83		1984-85		Average of 1981-85	
	Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A
Densité de plantation initiale (plants/ha)	1981-83		1984-85		Moyenne de 1981 à 1985	
	Type B	Type A	Type B	Type A	Type B	Type A
7 500	0.367	0.422	0.581	0.547	0.453	0.502
15 000	0.359	0.444	0.567	0.534	0.437	0.484
30 000	0.368	0.460	0.490	0.485	0.417	0.472
45 000	0.372	0.486	0.486	0.489	0.416	0.462
Average / Moyenne	0.366	0.531	0.531	0.514	0.431	0.480

Within the first 3 years after planting, because the mulberry trees were relatively young, the influence of planting densities on the harvest index was not obvious. In the fourth and fifth years, the harvest index of dense mulberry fields was obviously reduced. When the planting density was increased from 15,000 to 30,000 plants.ha⁻¹, the harvest index declined from 0.567 (pattern B) and 0.534 (pattern A) to 0.490 and 0.486, decreasing by 13.6% and 9.2% respectively. However, it should be pointed out that although the mulberry harvest index declined as planting density increased, the mulberry leaf yield (absolute value) was still increasing as planting density increased due to a higher increment of biomass from dense planting.

5. Dense planting could heighten the solar energy utilization ratio of mulberry fields:

The implication of a solar energy utilization ratio varies according to its definition. In this article, it refers to the percentage of chemical energy converted from solar energy by a vegetation's photosynthesis accounted by the total radiant energy received by the vegetation, i.e.:

$$\text{Solar energy utilization ratio of a mulberry plantation (\%)} = \frac{\text{Chemical energy stored in mulberry trees}}{\text{Total solar radiation received by mulberry plantation}} \times 100$$

Therefore, according to total solar radiation received by a mulberry plantation in the growing season and converted net production of various mulberry organs into energy, the ratio of solar energy utilization of a mulberry cultivation can be obtained.

During the test period (from 1981 to 1985), a total of 5.055×10^{10} kcal radiant energy was received per hectare of mulberry plantation, annual reception was 1.011×10^{10} kcal on average. Annual reception fluctuated by 3% on average. Over one year, the reception was highest from April to September, accounting for about 63% of the annual value. During the test period, 3.550×10^{10} kcal radiant energy was received per hectare of mulberry fields in its growing season (from early April to the end of October). Annual reception per hectare in the growing season was 7.10×10^9 kcal on average, accounting for approximately 70% of the annual reception.

The energy content in various mulberry (Shin Ichinose) organs is shown in Table V. Because various mulberry organs accounted for different portions in mulberry net production, the energy content of the bodies of the mulberries could not be expressed with the average value listed in Table V. Based on specific calculations, it was found to be 4.37 kcal.g^{-1} for the trees undergoing summer pruning from the third year and 4.36 kcal.g^{-1} for those undergoing summer pruning from the second year.

Table V. Energy content of various organs of mulberry (cv. Shin Ichinose).

Tableau V. Contenu en énergie de divers organes du mûrier (cv. Shin Ichinose).

Organ Organe	Energy content (kcal.g ⁻¹) Contenu en énergie (kcal/g)
Leaf / Feuille	4.24
Branch / Branche	4.50
Trunk / Tronc	4.43
Root / Racine	4.48
Average / Moyenne	4.41

Based on the net production and energy content of various mulberry organs and radiant energy received by the mulberry plantations during the test period, we calculated the solar energy utilization ratios of the test mulberry fields based on the annual radiant energy reception and reception in the growing season (Tables VI and VII).

The results showed that the solar energy utilization ratio fluctuated within ranges of 0.3-0.7% (based on the annual reception) and 0.4-1.0% (based on reception in the growing season) during the first 5 years after planting. The utilization ratio was greatly influenced by cultivation measures. On average, during the first 5 years after planting, the solar energy utilization ratio of mulberry field under summer pruning from the third year was 20% higher than that from the second year; that of the dense mulberry field was higher than that of the sparser field. If that of 7,500 plants.ha⁻¹ was regarded as 100%, that of 15,000, 30,000 and 45,000 plants.ha⁻¹ would be 127%, 138% and 152% (pattern B), 137%, 144% and 160% (pattern A), respectively. Moreover, the effect of dense planting on an increased solar energy utilization ratio was greater than postponing the time of starting summer pruning.

Table VI. Radiant energy utilization ratio (%) of mulberry fields under different planting densities in the first 5 years after planting (based on the annual reception of radiant energy).

Tableau VI. Pourcentage d'utilisation de l'énergie de rayonnement par les mûraies en fonction de la densité de plantation dans les 5 années suivant la plantation (basé sur la réception annuelle d'énergie de rayonnement).

Initial planting density (plants.ha ⁻¹)	1981-83		1984-85		1981-85	
	Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A
<i>Densité de plantation initiale</i> (plants/ha)	1981-83		1984-85		1981 à 1985	
	Type B	Type A	Type B	Type A	Type B	Type A
7 500	0.434	0.324	0.440	0.381	0.436	0.346
15 000	0.574	0.437	0.517	0.528	0.552	0.473
30 000	0.602	0.441	0.606	0.589	0.604	0.499
45 000	0.675	0.538	0.646	0.576	0.663	0.553
Average / Moyenne	0.571	0.435	0.552	0.518	0.564	0.468

Table VII. Radiant energy utilization ratio (%) of mulberry fields under different planting densities in the first 5 years after planting (based on the reception of radiant energy during mulberry growing season).

Tableau VII. Pourcentage d'utilisation de l'énergie de rayonnement par les mûraies en fonction de la densité de plantation dans les 5 années suivant la plantation (basé sur la réception de l'énergie de rayonnement au cours de la période de croissance des mûriers).

Initial planting density (plants.ha ⁻¹)	1981-83		1984-85		1981-85	
	Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A	Pattern B	Pattern A
<i>Densité de plantation initiale</i> (plants/ha)	1981-83		1984-85		1981 à 1985	
	Type B	Type A	Type B	Type A	Type B	Type A
7 500	0.616	0.460	0.630	0.545	0.621	0.493
15 000	0.814	0.620	0.741	0.756	0.785	0.674
30 000	0.855	0.625	0.868	0.844	0.860	0.711
45 000	0.957	0.764	0.925	0.824	0.945	0.788
Average / Moyenne	0.810	0.617	0.791	0.742	0.803	0.666

6. Discussion:

6.1. As stated above, increasing plant density can accelerate the advance of mulberry populations in the early stage after planting, result in an early formation of large leaf area, reduce the loss of light in young mulberry fields, and thus is one of the important ways of heightening solar energy utilization ratio.

6.2. Although dense planting can reduce the loss of light in young plantations, this does not mean the denser the better. If the density is too high, not only will the cost of planting increase, but also the harvest index will be lowered. Our results showed that the harvest index declined by less than 3% when the planting density was increased from 7,500 to 15,000 plants.ha⁻¹; but it declined noticeably when the planting density was further increased to 30,000 plants.ha⁻¹. Hence, further studies are necessary to find an appropriate density between 15,000 and 30,000 plants.ha⁻¹ in order to maintain a higher solar energy utilization ratio while avoiding too low a harvest index.

6.3. Mulberries are deciduous trees. They have no photosynthesis after leaf fall in winter. During the mulberry growing season, especially after summer pruning, the loss of solar energy is also relatively high in mulberry cultivation. Although dense planting can reduce loss of light to some extent in young mulberry fields, due to the intrinsic biological characteristics mulberries possess and mulberry leaf harvesting patterns formed from a long history of cultivation, it is still impossible to fully utilize the solar energy throughout the year if only mulberries are utilized. A forest solely of mulberries will certainly result in a fairly high loss of solar energy. Hence, only after intercrops (including green manure) are introduced into mulberry plantation, the utilization of sunlight energy can be effectively improved. As regards the experience of China's sericultural farmers on intercropping, a special report has been published (Gong *et al.*, 1994).

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thankfully acknowledge Jiangsu Meteorological Archives for providing the data on radiant energy during the mulberry growing season.

REFERENCES

- GONG L. (1977) Mulberry yielding capacity in the light of solar energy utilization. Symposium of Seric. Sci., Published by Jiangsu Sericultural Research Inst., 3, 30-34.
 GONG L. (1980) An estimation of mulberry solar energy utilization ratio. Bull. of Seric., 11(4), 41-42.
 GONG L. (1981) Mulberry leaf area duration and its determination. Seric. Sci., 7(1), 36-40.
 GONG L., PAN Y.L. (1980) Solar energy utilization in mulberry cultivation. Bull. of Seric., 11(1), 2-6.
 GONG L., REN D.J. (1989) Studies on mulberry population structure. IV: Population structure and matter production. Seric. Sci., 15(1), 1-6.
 GONG L., WANG Y., TU T.S., XU J.S. (1994) An analysis on economic benefit of intercropping in mulberry field in Tongxian, Zhejiang Province, China. Indian J. Seric., 33(2), 195-197.
 REN D.J. (1979) Studies on mulberry population structure and solar energy utilization. Seric. Sci., 5(4), 218-222.
 REN D.J., GONG L. (1985) Studies on mulberry population structure. I: Characteristics of mulberry population structure. Seric. Sci., 11(2), 71-75.
 REN D.J., GONG L. (1986) Studies on mulberry population structure. II: Mulberry planting densities and its population structure. Seric. Sci., 12(3), 129-132.
 REN D.J., GONG L. (1987) Studies on mulberry population structure. III: Mulberry varieties and population structure. Seric. Sci., 13(1), 11-14.

ETUDE SUR L'UTILISATION DE L'ENERGIE SOLAIRE PAR LES MURAIES EN FONCTION DE LA DENSITE DE PLANTATION

L. GONG, D.-J. REN & Y. WANG

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, Jiangsu, Chine.

Suivant la densité de plantation, le rendement en feuilles des mûraies de Shin Ichinose varie de 4,60 à 39,38 tonnes/ha/an dans les cinq premières années après la plantation ; la productivité primaire nette varie de 8 à 16 tonnes/ha/an ; l'indice de récolte varie de 0,3 à 0,6 ; le taux d'utilisation de l'énergie solaire varie de 0,3 à 0,7 % (sur l'année) et de 0,4 à 1 % (pendant les périodes de croissance). Une densité de plantation élevée et le décalage de la taille d'été donnent une augmentation du rendement en feuilles et un accroissement de la productivité primaire nette et du taux d'utilisation de l'énergie solaire dans les mûraies. Néanmoins, une densité de plantation élevée entraîne une diminution de l'indice de récolte.

INTRODUCTION

L'utilisation de l'énergie solaire par les plants de mûriers fait depuis longtemps l'objet de recherches dans les instituts d'expérimentation séricicole. Actuellement, le taux d'utilisation de l'énergie solaire des mûraies est encore faible en Chine. Gong (1980) a observé que, lors de la saison de croissance du mûrier, le taux d'utilisation de l'énergie solaire des mûraies à productivité moyenne est de seulement 0,35 % dans les provinces de Jiangsu et de Zhejiang, tandis que celui des mûraies à forte productivité (pour lesquelles le rendement en feuilles atteint 37,5 tonnes/ha/an) ne dépasse pas 1,15 %. L'augmentation de l'utilisation de l'énergie solaire par l'amélioration des systèmes agronomiques et des techniques culturales est donc devenue indispensable pour les études sur la culture du mûrier. Depuis 1977, nous avons étudié la relation entre l'utilisation de l'énergie solaire et le potentiel d'augmentation du rendement des mûriers, la structure des plantations de mûriers et des différentes mesures de culture ; nous avons estimé les taux d'utilisation des mûraies en fonction de leur productivité au cours de la saison de croissance en Chine et avons proposé de nouveaux concepts en vue d'améliorer le taux d'utilisation de l'énergie solaire par les mûraies (Gong, 1977, 1980, 1981 ; Gong et Pan, 1980 ; Gong et Ren, 1989 ; Ren, 1979 ; Ren et Gong, 1985, 1986, 1987).

Pour fixer l'énergie solaire dans les substances organiques, la plante doit d'abord capter et absorber l'énergie et ensuite la convertir en énergie chimique. La première étape est étroitement liée à la densité de plantation. La couche de feuillage supérieure des mûraies dont la densité de plantation est modérée termine sa croissance plus tôt, ce qui favorise le captage et l'absorption de l'énergie solaire. Depuis 1981, nous avons réalisé des études assez détaillées sur l'utilisation de l'énergie solaire par les mûraies en fonction de la densité de plantation sur cinq années consécutives. Les résultats sont présentés ici.

MATERIELS ET METHODES

Au cours du printemps 1981, des mûraies expérimentales ont été établies. Le sol du champ expérimental est composé de terre marron-jaune ; le pH est de 6 à 7 ; le contenu en matières organiques est d'environ 1 % ; la culture précédente était également le mûrier.

On a utilisé le cultivar Shin Ichinose. Quatre densités de plantation, 7 500, 15 000, 30 000 et 45 000 plants/ha ont été considérées. L'espacement entre les rangées a été fixé à 1,33 m. L'espacement entre les plants est respectivement de 1,00, 0,50, 0,25 et 0,17 m. Trois réplicats ont été mis en place pour chaque traitement. La surface des parcelles est de 21,5 m², elles sont entourées par des rangées non expérimentales.

Avant la plantation, de la fumure de base (37,5 tonnes de détritux et 0,375 tonnes de phosphate fondu de calcium-magnésium par hectare) a été déposée dans les emplacements. La fumure appliquée dans l'année suivant la plantation est composée de 0,225 tonnes d'azote (N), 0,09 tonne de P₂O₅ et 0,135 de K₂O tonnes par hectare ; celle appliquée dans la deuxième année est composée de 0,45 tonne de N, 0,18 tonnes de P₂O₅ et 0,27 tonnes de K₂O ; celle appliquée à partir de la troisième année (1983) est composée de 0,675 tonnes de N, de 0,27 tonnes de P₂O₅ et 0,405 tonnes de K₂O par hectare et par an. Pour l'azote, on a utilisé principalement de l'urée et du sulfate d'ammonium ; pour le phosphore et le potassium, on a utilisé du superphosphate de calcium, du phosphate fondu calcium-magnésium, du chlorure de potassium, etc. On a également appliqué une certaine quantité d'engrais à base de tourteau, de compost, de fumier de cochon, etc.

Les arbres ont été cultivés en taille basse. Chaque traitement a été divisé en deux types de tailles, le type A, taille d'été à partir de la deuxième année (les arbres ont été taillés au printemps de l'année de plantation et en été au cours des années suivantes), et le type B, taille à partir de la troisième année (les arbres ont été taillés au printemps pendant les deux premières années puis en été au cours des années suivantes).

Pour l'estimation de l'accumulation de matières sèches dans les mûriers, des plantules fraîches correspondant à toutes les parcelles d'un réplicat ont été pesées avant la plantation. Parallèlement, 10 plantules ont été prélevées au hasard afin de déterminer individuellement le poids frais des racines, des tiges et des plants entiers. Les échantillons ont ensuite été séchés à 85 °C jusqu'à ce que leur poids soit constant. Le poids sec et le taux de matières sèches ont ainsi été obtenus et le poids sec des plantules au moment de la plantation a été calculé. Fin 1983 (troisième année après la plantation) et fin 1985 (cinquième année après la plantation), un certain nombre de plants représentatifs a été sélectionné pour déterminer le poids sec des mûriers entiers. Les méthodes utilisées sont les suivantes : les arbres représentatifs ont été déracinés en hiver ou au printemps avant la germination des bourgeons, les échantillons frais de troncs, de branches et de racines (séchage à l'air après lavage) ont été pesés, puis environ 100 grammes de racines, de troncs et de branches ont été prélevés afin de déterminer le taux de matière sèche.

Le contenu en énergie des différents organes de mûrier a été déterminé à l'aide d'un calorimètre calorifuge, modèle JR-2800.

L'intensité lumineuse a été déterminée à l'aide d'un compteur de luminosité, modèle ZF-2. Les densités indiquées dans cet article ont été mesurées après la plantation.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. L'augmentation de la densité de plantation permet de réduire la perte de lumière au cours des premiers stades de plantation :

Au cours des premiers stades de développement du mûrier, la perte de luminosité est assez importante en raison de la minceur de la couche supérieure du feuillage. Comme le montre le tableau 1, au 26 juillet et au 25 août de la deuxième année après la plantation (1982), le pourcentage de lumière pénétrant dans le sol est d'environ 32 % et 20 % respectivement dans les mûraies dont la densité est de 30 000 plants/ha, tandis qu'il s'élève à 58 % et 32 % dans les mûraies de 7 500 plants/ha. La perte de lumière est évidente jusqu'en 1985, ce qui indique qu'une augmentation modérée de la densité de plantation est une méthode efficace pour réduire la perte de lumière et accroître l'utilisation de l'énergie solaire dans les mûraies récentes.

2. L'augmentation de la densité de plantation entraîne une amélioration du rendement en feuilles :

Les rendements en feuilles des mûraies de Shin Ichinose en fonction de la densité de plantation sont présentés dans le tableau II. Ce tableau indique que la densité de plantation a une influence maximale sur le rendement en feuilles. Dans la fourchette de 7 500 à 45 000 plants/ha, le rendement en feuilles est d'autant plus élevé que la plantation est dense. Les rendements annuels moyens en feuilles sur six ans sont : 17,15, 22,05, 22,42 et 24,62 tonnes/ha (type A) et 18,68, 22,40, 23,49 et 25,03 tonnes/ha (type B), suivant les densités de plantation. Les rendements en feuilles des mûraies du type B sont légèrement supérieurs à ceux des mûraies du type A. La différence de rendement en feuilles entre les différentes densités de plantation est tout à fait remarquable.

3. L'augmentation de la densité de plantation entraîne une accélération du taux de production de matières sèches :

Le taux de production de matières sèches correspond à la quantité de matières organiques produite par unité de surface de végétation et par unité de temps. Il est exprimé normalement en tonnes/ha/an. Il est également appelé productivité primaire nette ou productivité. La production nette et la productivité primaire nette des mûraies Shin Ichinose dans les cinq années après la plantation en fonction de la densité de plantation sont présentées dans le tableau III. La productivité primaire nette des mûraies considérées varie dans une fourchette de 8 à 16 tonnes/ha/an et est fortement influencée par les méthodes de culture. La productivité primaire nette pendant les cinq premières années pour le type B est supérieure de 20 % à celle du type A ; celle des mûraies denses est supérieure à celle des mûraies moins denses. Si l'on considère la productivité primaire nette des mûraies ayant une densité de 7 500 plants/ha comme 100 %, celles de 15 000, 30 000 et 45 000 plants/ha sont respectivement de 126 %, 138 % et 152 % (type B) et de 136 %, 144 % et 159 % (type A). Néanmoins, l'effet de l'augmentation de la densité de plantation sur la productivité primaire nette est supérieur à celui du décalage de la taille d'été.

4. L'augmentation de la densité de plantation est susceptible de réduire l'indice de récolte :

Le taux correspondant à la part de la biomasse récoltée dans la production nette totale des mûriers est appelé indice de récolte ou coefficient de rentabilité. Actuellement, l'objectif principal de la culture du mûrier est la récolte de feuilles pour l'élevage des vers à soie. La part du rendement net en feuilles dans la production nette totale de mûrier peut donc être définie comme étant l'indice de récolte. A mesure que la production nette de mûrier s'accroît, l'augmentation de l'indice de récolte par des méthodes de cultures améliorées est économiquement très importante.

Comme le montre le tableau IV, l'indice de récolte des mûriers cultivés en taille basse se situe généralement dans une fourchette de 0,3 à 0,6. Il n'est pas constant mais varie en fonction de facteurs tels que l'âge du plant, la densité de plantation et l'époque de la taille d'été. Dans les trois premières années de plantation, les mûriers utilisent relativement plus de photosynthats pour établir leur tronc et leur système racinaire. De ce fait, l'indice de récolte ne dépasse pas 0,366 (type B) et 0,442 (type A). A la troisième et à la quatrième année, les résultats sont tout à fait différents. A ce stade, les troncs et les systèmes racinaires sont déjà bien établis. La biomasse de ces deux organes augmente très peu. Seules les feuilles et les branches sont récoltées tous les ans et leur biomasse augmente à une certaine vitesse annuellement. L'indice de récolte moyen atteint donc 0,531 (type B) et 0,514 (type A).

Dans les trois premières années suivant la plantation, les arbres étant relativement jeunes, l'influence de la densité de plantation sur l'indice de récolte n'est pas marquée. A la quatrième et à la cinquième année, l'indice de récolte des mûraies à forte densité diminue nettement. Lorsque la densité de plantation passe de 15 000 à 30 000 plants/ha, l'indice de récolte passe de 0,576 (type B) et 0,534 (type A) à 0,490 et 0,489, diminuant de 13,6 % et 9,2 % respectivement. Cependant, il convient de souligner que, bien que l'indice de récolte des mûriers diminue à mesure que la densité de plantation augmente, le rendement en feuilles (valeur absolue) continue d'augmenter en même temps que la densité de plantation, en raison de l'accroissement de la biomasse dans les plantations à forte densité.

5. L'augmentation de la densité de plantation peut améliorer le taux d'utilisation de l'énergie solaire par les mûraies :

Le taux d'utilisation de l'énergie solaire varie suivant sa définition. Dans cet article, il correspond au pourcentage d'énergie solaire convertie en énergie chimique par la photosynthèse de la végétation sur le total d'énergie de rayonnement reçue par cette végétation, soit :

$$\text{Taux d'utilisation de l'énergie solaire d'une mûraie (\%)} = \frac{\text{Energie chimique stockée dans les mûriers}}{\text{Rayonnement solaire total reçu par la mûraie}} \times 100$$

Ainsi, on peut déterminer le taux d'utilisation de l'énergie solaire d'une mûraie d'après le taux de rayonnement solaire total reçu par cette mûraie au cours de la saison de croissance et la production nette d'organes de mûrier convertie en énergie.

Au cours de la période expérimentale (de 1981 à 1985), au total $5,005 \times 10^{10}$ kcal d'énergie de rayonnement ont été reçues par hectare de mûraie, la réception annuelle a été de $1,011 \times 10^{10}$ kcal en moyenne. La réception annuelle a varié en moyenne de 3 %. Sur une année, la réception a été maximale d'avril à septembre, soit 63 % de la valeur annuelle. Au cours de la période expérimentale, $3,550 \times 10^{10}$ kcal d'énergie de rayonnement ont été reçues par hectare de mûraie durant la période de croissance (début avril à fin octobre). La réception annuelle durant la période de croissance a été de $7,10 \times 10^9$ kcal en moyenne, soit 70 % de la réception annuelle.

Le contenu en énergie des différents organes de mûrier (Shin Ichinose) est présenté dans le tableau V. Les divers organes de mûrier correspondant à différents taux dans la production nette du mûrier, le contenu en énergie de chaque mûrier n'a pas pu être exprimé dans la valeur moyenne donnée dans le tableau V. Sur la base des calculs spécifiques, ce contenu est de 4,37 kcal/g pour les arbres soumis à la taille d'été à partir de la troisième année et de 4,36 kcal/g pour les arbres soumis à la taille d'été à partir de la deuxième année.

Sur la base de la production nette et du contenu en énergie des différents organes de mûrier et d'après l'énergie de rayonnement reçue par les mûraies au cours de la période expérimentale, nous avons calculé les taux d'utilisation de l'énergie solaire des mûraies considérées en fonction de la réception annuelle d'énergie de rayonnement et la réception au cours de la saison de croissance (Tableaux VI et VII).

Les résultats obtenus montrent que le taux d'utilisation de l'énergie solaire varie dans des fourchettes de 0,3 à 0,7 % (sur la base de la réception annuelle) et de 0,4 à 1,0 % (sur la base de la réception durant la période de croissance) sur les cinq ans suivant la plantation. Le taux d'utilisation est fortement influencé par les méthodes de culture. En moyenne, au cours des cinq premières années après la plantation, le taux d'utilisation de l'énergie solaire des mûraies soumises à la taille d'été à partir de la troisième année est supérieur de 20 % à celui des mûraies soumises à la taille d'été à partir de la deuxième année ; celui des mûraies à espacements serrés est supérieur à celui des mûraies à espacements larges. Si l'on considère que le taux d'utilisation des mûraies à 7 500 plants/ha est de 100 %, celui des mûraies à 15 000, 30 000 et 45 000 plants/ha est respectivement de 127 %, 138 %, 152 % (type B) et de 137 %, 144 % et 160 % (type A). De plus, l'effet de l'espacement sur l'augmentation du taux d'utilisation de l'énergie solaire est plus marqué que celui du décalage du début de la taille d'été.

6. Discussion :

6.1. Comme on l'a indiqué ci-dessus, l'augmentation de la densité de plantation peut accélérer la progression des populations de mûriers dans les premières stades après la plantation, permettre une formation précoce d'une surface foliaire importante, réduire la perte de luminosité dans les jeunes mûraies et fait partie des méthodes les plus appropriées à l'amélioration du taux d'utilisation de l'énergie solaire.

6.2. Bien que la plantation en espacements serrés puisse réduire la perte de luminosité dans les jeunes plantations, ceci ne signifie pas qu'il faut systématiquement faire appel à cette méthode. Une densité trop élevée entraîne non seulement une augmentation du coût de plantation mais également une diminution de l'indice de récolte. Nos résultats montrent que l'indice de récolte diminue de moins

de 3 % lorsque la densité de plantation augmente de 7 500 à 15 000 plants/ha mais que la diminution est beaucoup forte lorsque la densité de plantation passe à 30 000 plants/ha. Un complément d'étude est donc nécessaire pour déterminer une densité appropriée, entre 15 000 et 30 000 plants/ha, afin de maintenir un taux élevé d'utilisation de l'énergie solaire tout en évitant une diminution trop marquée de l'indice de récolte.

6.3. Les mûriers sont des arbres à feuillage caduc. Ils n'ont plus de photosynthèse après la chute des feuilles en hiver. Au cours de la saison de croissance de mûrier, et surtout après la taille d'été, la perte d'énergie solaire est également relativement élevée dans les mûraies. Bien qu'une forte densité de plantation permette de réduire, dans une certaine mesure, la perte de luminosité dans les jeunes mûraies en raison des caractéristiques biologiques intrinsèques des mûriers et des types de récoltes des feuilles élaborés progressivement depuis un passé reculé, il demeure impossible d'utiliser pleinement l'énergie solaire tout au long de l'année dans une culture utilisant uniquement les mûriers. Une forêt composée uniquement de mûriers présentera certainement une perte élevée d'énergie solaire. Aussi, l'utilisation de l'énergie solaire ne pourra être améliorée qu'après introduction de cultures alternées (y compris de verdage) dans la mûraie. Pour ce qui concerne les connaissances des sériciculteurs chinois en matière de cultures alternées, une étude spécifique a été publiée (Gong et coll., 1994).

INFLUENCE OF COCOON COOKING TEMPERATURE ON COHESION OF RAW SILK

SUBHAS V. NAIK¹, C. TAKABAYASHI^{2*}, T.H. SOMASHEKAR¹ & H. TSUBOI²

1. Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, BTM Layout, Madiwala, Bangalore - 560068, India.
2. National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-4-8, Goda, Okaya, Nagano Prefecture 394, Japan.

The influence of cocoon cooking temperature on cohesion of raw silk has been studied. Bivoltine hybrid cocoons of different (Indian and Japanese) races were used for the study. It was observed that cooking temperature had a significant influence on cohesion of raw silk. Average cohesion (strokes) of raw silk of bivoltine cocoons was increased from 43 to 139 as the cooking temperature increased from 90 °C to 96 °C. The cocoon variety also had a significant influence on cohesion of raw silk, which may be attributed to cocoon characteristics, particularly sericin characteristics.

Keywords: Bivoltine cocoons, cooking temperature, cooking degree, sericin, cohesion.

INTRODUCTION

Cohesion is considered as one of the important properties of raw silk as it plays a decisive role on the performance of raw silk during preparatory operations and weaving. Particularly, when the raw silk is used as warp without twist for producing certain types of fabrics, good cohesion of raw silk is an essential requirement.

Cohesion of raw silk is influenced by many factors, i.e., cohesiveness of the sericin and reeling process parameters like croissure twist during reeling and reeling basin water temperature (Warren, 1922). A series of studies has been conducted in Japan with respect to the influence of cocoon quality and filature process on cohesion of raw silk (Yui *et al.*, 1962). But information available regarding the influence of cocoon cooking temperature on cohesion of raw silk is scanty. This information is essential for the Indian silk reeling industry, where cooking is carried out in a three-pan system using water as a medium. Since the cocoon cooking degree has a direct bearing on the softening of sericin, it was thought that a relation exists between the cocoon cooking temperature — hence, the cocoon cooking degree — and the cohesion of raw silk. In order to investigate the influence of cocoon cooking temperature on cocoon cooking conditions and hence cohesion of raw silk, this study was conducted with Indian and Japanese bivoltine hybrid cocoons.

MATERIALS AND METHODS

1. Materials:

Three lots of Indian bivoltine hybrid cocoons, CSR2 × CSR5, CSR3 × CSR10 and NB₁₈NP₂, and two lots of Japanese bivoltine hybrid cocoons, Kinshu × Showa and Shungetsu × Hosho, were used for the study.

* Author to whom correspondence may be addressed.

2. Drying conditions:

The cocoons were dried in a batch type hot air drier following a temperature profile of 115 °C to 50 °C for a period of 4.5 hours. A degree of drying of about 41-43% was achieved both for the Indian and the Japanese cocoons.

3. Cocoon cooking conditions:

Cocoon cooking was carried out in a three-pan cooking device. Using the two-way classification method, the design of the experiment was made with two factors, namely, different cocoon lots and different cocoon cooking temperatures. Five cocoon lots of different races and three cooking temperatures, i.e., 90 °C, 93 °C, and 96 °C, were used for the study. The other cooking conditions were kept constant for all combinations. A brief description is given below.

- Retting conditions: initially the cocoons were pre-treated in hot water at 50 °C for 2 minutes.
- High temperature for permeation: after the retting treatment, the cocoons were subjected to high temperature in water at 90 °C for 2 minutes.
- Permeation conditions: immediately after high temperature for the permeation treatment, the cocoons were immersed in water at 65 °C for a period of 1 minute for permeation of water in the cocoon.
- Cooking temperature: the cocoons after permeation treatment were cooked using three temperatures, i.e., 90 °C, 93 °C, and 96 °C, for a constant period of 3.5 minutes to vary the cocoon cooking degree.
- Adjustment temperature and time: the cooking temperature was brought down to 80 °C by stopping the steam supply and adding water gradually in 4 minutes.
- Reeling: reeling of cocoons was carried out on an automatic reeling machine to produce 26/28 deniers at 100 meters/minute reeling speed and maintaining 8 cm croissure length. The reeling basin water temperature was maintained constantly at 40 °C.

Data collected:

In order to understand the influence of the cocoon cooking temperature on the cooking conditions, the water content in the cooked cocoon and moisture content in the cooked cocoon shell were measured with one lot each of Indian and Japanese bivoltine cocoons, using the following formulac,

$$\text{Absorption of water in the cocoon (cocoon cooking degree)} = \frac{\text{Cooked cocoon weight}}{\text{Dry cocoon weight}}$$

$$\text{Moisture content in the cocoon shell (\%)} = \frac{\text{Cooked shell weight} - \text{dry shell weight}}{\text{Dry shell weight}} \times 100$$

The samples of reeled silk were tested for cohesion following the international standard method.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the analysis of variance of the effect of the cooking temperature on the cohesion of raw silk are presented in Table I. The effects of cooking temperature on the cohesion of raw silk of both Indian and Japanese bivoltine cocoons are shown in Figures 1 and 2. The results of the analysis of variance for the absorption of water in the cocoon and moisture content in the cocoon shell of Indian and Japanese bivoltine hybrid cocoons are presented in Tables II to V. The effects of cooking temperature on absorption of water in the cocoon and moisture content in the cocoon shell of both Indian and Japanese bivoltine hybrid cocoons are shown in Figures 3 to 6.

From Table I, it is observed that the cooking temperature had a significant influence on the cohesion of raw silk. The influence of cooking temperature on the cohesion of raw silk was significant

Table I. Results of the analysis of variance of the effect of the cooking temperature on the cohesion of raw silk.

Tableau I. Résultats de l'analyse de variance de l'effet de la température de cuisson sur la cohésion de la soie grège.

Factor	Sum of squares	Degrees of freedom	Mean of squares	F value	Contribution ratio (%)
<i>Facteur</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degrés de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>Valeur de F</i>	<i>Rapport de contribution (%)</i>
A: Cooking temperature <i>A : Température de cuisson</i>	23053.7	2	11526.9	20.428**	44.79
B: Cocoon lots (of different races) <i>B : Lots de cocons (races différentes)</i>	21379.3	4	5344.83	9.472**	39.07
E: Error / <i>Ecart</i>	4514.26	8	564.282		
Total	48947.3	14			

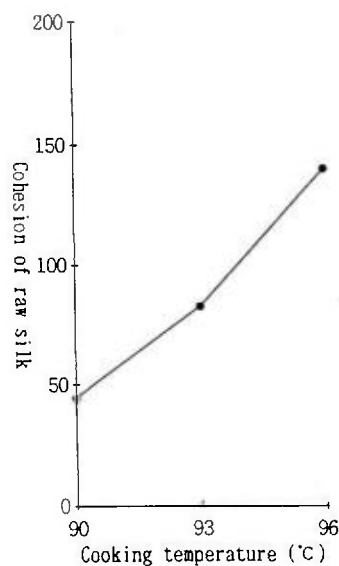


Fig. 1: Effect of cooking temperature on the cohesion of raw silk.

Fig. 1 : Effet de la température de cuisson sur la cohésion de la soie grège.

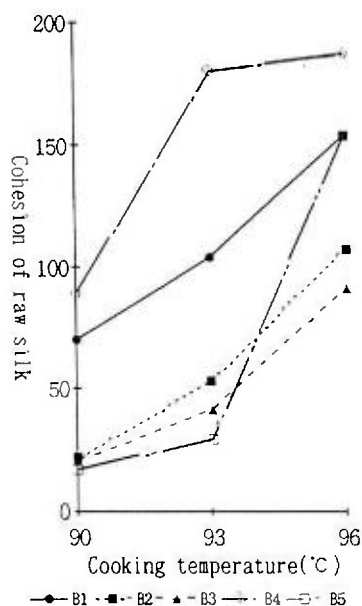


Fig. 2: Effect of cooking temperature on the cohesion of raw silk of bivoltine cocoons of different races.

Fig. 2 : Effet de la température de cuisson sur la cohésion de la soie grège de cocons bivoltins issus de races différentes.

B1: CSR2 × CSR5; B2: CSR3 × CSR6; B3: NB₁₈ × NP₂; B4: Shungetsu × Hoshio; B5: Kinshu × Showa.

Table II. Results of the analysis of variance of the effect of the cooking temperature on the cooking degree of Indian bivoltine hybrid cocoons (race: CSR2 × CSR5).

Tableau II. Résultats de l'analyse de variance de l'effet de la température de cuisson sur le degré de cuisson des cocons hybrides bivoltins indiens (race : CSR2 × CSR5).

Factor	Sum of squares	Degrees of freedom	Mean of squares	F value
<i>Facteur</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degrés de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>Valeur de F</i>
A: Cooking temperature / <i>Température de cuisson</i>	26.305	2	13.153	39.774**
E: Error / <i>Ecart</i>	18.849	57	0.331	
Total	45.154	59		

Table III. Results of the analysis of variance of the effect of the cooking temperature on the cooking degree of Japanese bivoltine hybrid cocoons (race: Shungetsu × Hosho).

Tableau III. Résultats de l'analyse de variance de l'effet de la température de cuisson sur le degré de cuisson des cocons hybrides bivoltins japonais (race : Shungetsu × Hosho).

Factor	Sum of squares	Degrees of freedom	Mean of squares	F value
<i>Facteur</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degrés de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>Valeur de F</i>
A: Cooking temperature / <i>Température de cuisson</i>	35.22	2	17.61	21.768**
E: Error / <i>Ecart</i>	46.112	57	0.809	
Total	81.332	59		

at the 1% level. The contribution ratio of the cooking temperature on the cohesion of raw silk was 44.79%. From Figure 1, it can be seen that the average cohesion strokes of raw silk in bivoltine cocoon lots was increased from 43 to 139 as the cooking temperature increased from 90 °C to 96 °C. It is to be noted that cohesion strokes of 43 can be considered as poor since it is gradeless as per the international standards, and cohesion strokes of 139 can be considered as excellent as it is '4A' grade as per the international standards.

Table IV. Results of the analysis of variance of the effect of the cooking temperature on the moisture content of Indian bivoltine hybrid cocoon shell (race: CSR2 × CSR5).

Tableau IV. Résultats de l'analyse de variance de l'effet de la température de cuisson sur le contenu en eau de la coque des cocons hybrides bivoltins indiens (race : CSR2 × CSR5).

Factor	Sum of squares	Degrees of freedom	Mean of squares	F value
<i>Facteur</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degrés de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>Valeur de F</i>
A: Cooking temperature / <i>Température de cuisson</i>	65413	2	32706.5	9.159**
E: Error / <i>Écart</i>	203554	57	3571.12	
Total	268967	59		

Table V. Results of the analysis of variance of the effect of the cooking temperature on the moisture content of Japanese bivoltine hybrid cocoon shell (race: Shungetsu × Hosho).

Tableau V. Résultats de l'analyse de variance de l'effet de la température de cuisson sur le contenu en eau de la coque des cocons hybrides bivoltins japonais (race : Shungetsu × Hosho).

Factor	Sum of squares	Degrees of freedom	Mean of squares	F value
<i>Facteur</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degrés de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>Valeur de F</i>
A: Cooking temperature / <i>Température de cuisson</i>	117098	2	58549	19.161**
E: Error / <i>Écart</i>	174168	57	3055.58	
Total	291266	59		

The significant improvement of the cohesion of raw silk as the cooking temperature increased can be attributed to the fact that as the cooking temperature increased, the cooking degree increased and the cocoon filament sericin softening and swelling degree increased, resulting in a proper fixation of filaments in the raw silk thread. A lower cooking temperature (90 °C) resulted in a lower cooking degree and undercooking of cocoons and, hence, sericin was not softened and swollen to the required level. This resulted in poor agglutination of the filaments in the raw silk thread, and hence poor cohesion, even though sufficient binding pressure was exerted on the thread by putting a good croissure length of 8 cm during reeling, whereas the 96 °C cooking temperature resulted in the required

cooking degree, thus the sericin of the filament was soften and swollen to the required level due to the penetration of water from the outside to the inside and from the inside to the outside of the cocoon. When these filaments from the cocoons were passed through the croissure of good length during reeling, the required agglutination of the filament in the raw silk thread took place and resulted in good cohesion of raw silk.

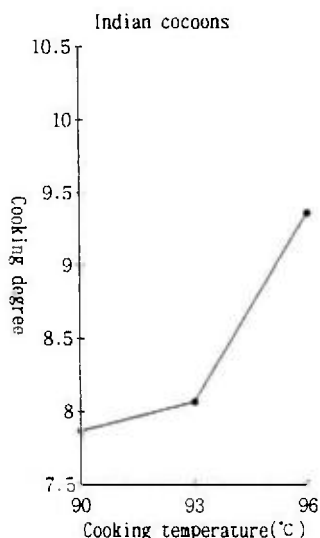


Fig. 3: Effect of cooking temperature on the cooking degree of Indian bivoltine cocoons.

Fig. 3 : Effet de la température de cuisson sur le degré de cuisson des cocons bivoltins indiens.

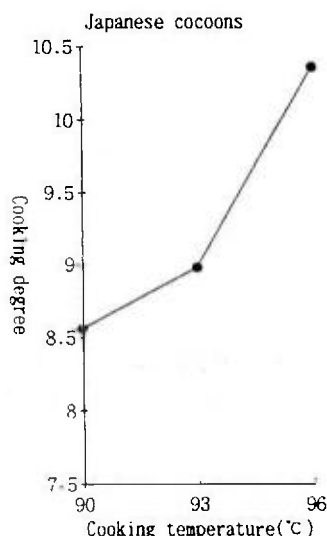


Fig. 4: Effect of cooking temperature on the cooking degree of Japanese bivoltine cocoons.

Fig. 4 : Effet de la température de cuisson sur le degré de cuisson des cocons bivoltins japonais.

With reference to the above explanation, from Tables II and III it can be observed that the influence of the cooking temperature on the cocoon cooking degree was significant at the 1% level both in the Indian and the Japanese cocoons. From Figures 3 and 4, it can be observed that water absorption increased from 7.9 times to 9.4 times the cocoon weight in the case of Indian cocoons and from 8.6 to 10.4 times the cocoon weight in the case of the Japanese bivoltine cocoons as the cooking temperature increased from 90 °C to 96 °C. It is to be noted that 7.9 and 8.6 cocoon cooking degrees are considered as undercooking (Takabayashi, 1985). The same trend was observed with the water content in the cocoon shell. From Tables IV and V it can be observed that the influence of the cooking temperature on the water content in the cocoon shell is significant at the 1% level both in the Indian and the Japanese bivoltine cocoons. From Figures 5 and 6, it can be seen that the moisture content in the cocoon shell increased from 363.7% to 441.8% in the case of Indian cocoons and from 340.5% to 435.9% in the case of Japanese cocoons, as the cocoon cooking temperature increased from 90 °C to 96 °C. The results obtained for the water content in the cocoon and moisture content in the cocoon shell clearly indicate that, under a given cooking time, as the cooking temperature increases the cocoon cooking degree, the sericin softening and swelling degrees also increase. Due to the softening and swelling of

cocoon filament sericin to the required level at a higher cooking temperature level, the agglutination of the filament in the raw silk thread, under the binding force given during reeling, is good, resulting in a good cohesion of raw silk.

The above discussion shows that optimum cooking of the cocoons in order to soften and swell the sericin of the filament in all layers of the cocoon uniformly to the required degree is a prerequisite for introducing a good cohesion in the raw silk with the required reeling process parameters.

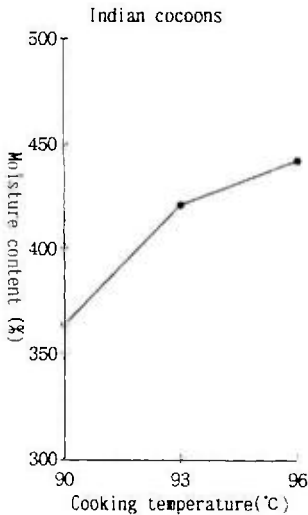


Fig. 5: Effect of cooking temperature on the moisture content in the cocoon shell of Indian bivoltine cocoons.

Fig. 5 : Effet de la température de cuisson sur le contenu en eau de la coque soyeuse des cocons bivoltins indiens.

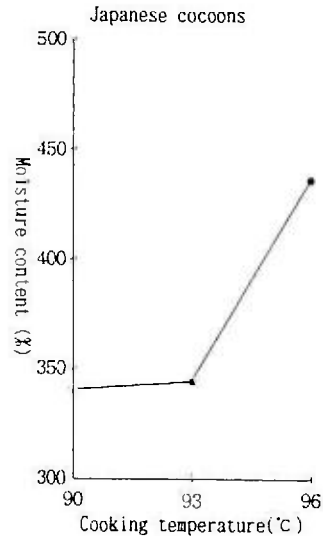


Fig. 6: Effect of cooking temperature on the moisture content in the cocoon shell of Japanese bivoltine cocoons.

Fig. 6 : Effet de la température de cuisson sur le contenu en eau de la coque soyeuse des cocons bivoltins japonais.

Influence of the cocoon quality on the cohesion of raw silk:

From Table I, it can be inferred that the use of different races also had a significant influence on the cohesion of raw silk. The influence of cocoon lots of different races on the cohesion of raw silk was significant at the 1% level. From the contribution factor calculation, it was found that contribution of cocoon lots of different races on the cohesion of raw silk is 39.07%. From the gradient of the curves in Figure 2 it can be observed that cohesion of raw silk of cocoon lots of different races is different at all the three cooking temperature levels used, even though the other reeling conditions used were identical. The results are in line with the observation made by Yui and Kobayashi (1962). It is to be noted that cocoon characteristics, particularly sericin characteristics, are influenced by silkworm races, rearing conditions and temperature and humidity maintained during cocoon spinning.

CONCLUSION

Based on the results obtained, it may be concluded that the cocoon cooking temperature has a significant influence on the cohesion of raw silk. The cocoon cooking temperature influences the cocoon cooking degree and, hence, the softening and swelling degree of the sericin of the cocoon filament, which in turn influence cohesion of raw silk. In order to produce raw silk with good cohesion from bivoltine cocoons that are hot air-dried to the optimum level, it is necessary to cook the cocoons at a higher cooking temperature (95-96 °C, when water is used as a cooking medium) for a required time, depending on the cocoon quality. The cocoon variety also has a significant influence on the cohesion of raw silk.

REFERENCES

- TAKABAYASHI C. (1985) Studies on the measurement and control of the state of cooked cocoons in the filature process. *Bull. Sericult. Exp. Sta., Tsukuba (Japan)*, 29(5), 563-615.
- YUI C., KOBAYASHI U. (1962) Influence of cocoon variety and filature process on cohesion of raw silk. *Sericult. Exp. Sta., Tokyo, Report 80*, 1-44.
- WARREN P.S. (1922) *Raw Silk Properties, Classification of Raw Silk and Silk Throwing*. 1st edition, pp. 28-29, Silk Publishing Company, New York.

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE DE CUISSON DES COCONS SUR LA COHESION DE LA SOIE GREGE

SUBHAS V. NAIK¹, C. TAKABAYASHI^{2*}, T.N. SOMASHEKAR¹ & H. TSUBOI²

1. Central Silk Technological Research Institute, Central Silk Board, BTM Layout, Madiwala, Bangalore - 560068, Inde.

2. National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-4-8, Goda, Okaya, Nagano Prefecture 394, Japon.

On a étudié l'influence de la température de cuisson des cocons sur la cohésion de la soie grège. Des cocons hybrides bivoltins de différentes races (indiennes et japonaises) ont été utilisés pour cette étude. La température de cuisson a une influence significative sur la cohésion de la soie grège. La cohésion moyenne (attaques) augmente de 34 à 149 lorsque la température augmente de 90 °C à 96 °C. La variété de cocon a également une influence significative sur la cohésion de la soie grège ; ceci pourrait être dû aux caractéristiques du cocon, en particulier aux caractéristiques de la séricine.

INTRODUCTION

La cohésion est considérée comme l'une des propriétés importantes de la soie grège car elle joue un rôle déterminant dans la performance de la soie grège au cours des opérations de préparation et pendant le tissage. En particulier, une bonne cohésion est essentielle lorsque la soie grège est utilisée comme fil de chaîne sans torsion pour la production de certains types de tissus.

La cohésion de la soie grège est influencée par de nombreux facteurs tels que l'adhérence de la séricine et le traitement au cours du dévidage comme la longueur de la croisure et la température de l'eau de la bassine (Warren, 1922). Une série d'études a été réalisée au Japon sur l'influence de la qualité du cocon et du processus de dévidage sur la cohésion de la soie grège (Yui et coll., 1962). Cependant, on dispose de peu d'informations sur l'influence de la température de cuisson sur la cohésion de la soie grège. Ces informations sont essentielles pour l'industrie du dévidage de la soie en Inde où la cuisson est réalisée dans un système à trois casseroles en utilisant l'eau comme milieu. Le degré de cuisson du cocon ayant un effet direct sur l'amollissement de la séricine, on a émis l'hypothèse qu'il existait une relation entre la température de cuisson des cocons – donc, le degré de cuisson des cocons – et la cohésion de la soie grège. Cette étude a été réalisée afin d'analyser l'influence de la température de cuisson des cocons sur les conditions de cuisson des cocons, donc la cohésion de la soie grège, chez des cocons hybrides bivoltins japonais et indiens.

MATERIELS ET METHODES

1. Matériels :

Trois lots de cocons hybrides bivoltins indiens (CSR2 × CSR5, CSR3 × CSR10 et NB₁₈NP₂) et deux lots de cocons hybrides bivoltins japonais (Kinshu × Showa et Shungetsu × Hosho), ont été utilisés pour cette étude.

* Auteur à contacter pour toute correspondance.

2. Conditions de séchage :

Les cocons ont été séchés en masse dans un séchoir à air chaud suivant un programme de température variant de 115 °C à 50 °C pendant 4,5 heures. On a obtenu un degré de séchage d'environ 41 à 43 % aussi bien pour les cocons indiens que pour les cocons japonais.

3. Conditions de cuisson des cocons :

La cuisson des cocons a été réalisée dans un appareil à trois casseroles. Suivant la méthode de double classification, l'expérience a été préparée en fonction de deux facteurs : les différents lots de cocons et les différentes températures de cuisson des cocons. Cinq lots de cocons de différentes races et trois températures de cuisson, soit 90 °C, 93 °C et 96 °C, ont été utilisés pour cette étude. Les autres conditions de cuisson ont été maintenues à un niveau égal pour toutes les combinaisons. Un bref descriptif est donné ci-dessous :

a) Conditions de rouissage : les cocons ont été préalablement traités dans l'eau chaude à 50 °C pendant 2 minutes.

b) Haute température pour l'infiltration : après le rouissage, les cocons ont été soumis à haute température dans de l'eau à 90 °C pendant 2 minutes.

c) Conditions d'infiltration : immédiatement après le traitement à haute température pour l'infiltration, les cocons ont été immergés dans de l'eau à 65 °C pendant 1 minute pour permettre l'infiltration de l'eau dans le cocon.

d) Température de cuisson : après l'infiltration, les cocons ont été cuits à trois températures (90 °C, 93 °C et 96 °C) sur une durée constante de 3,5 minutes afin de varier le degré de cuisson des cocons.

e) Température et durée d'ajustement : la température de cuisson a été ramenée à 80 °C en arrêtant l'apport de vapeur et en ajoutant progressivement de l'eau pendant 4 minutes.

f) Dévidage : les cocons ont été dévidés dans une bassine de dévidage automatique permettant de produire du fil de 26/28 deniers à une vitesse de dévidage de 100 mètres/minute en maintenant une croisure de 8 cm de longueur. La température de la bassine de dévidage a été maintenue constante à 40 °C.

Données collectées :

Afin de comprendre l'influence de la température de cuisson des cocons sur les conditions de cuisson, le contenu en eau des cocons cuits et le contenu en eau de la coque soyeuse cuite ont été mesurés sur un lot de chacune des variétés bivoltines indiennes et japonaises, d'après les formules suivantes:

$$\text{Absorption de l'eau dans le cocon (degré de cuisson des cocons)} = \frac{\text{Poids du cocon cuit}}{\text{Poids du cocon sec}}$$

$$\text{Contenu en eau de la coque (\%)} = \frac{\text{Poids de la coque cuite} - \text{poids de la coque sèche}}{\text{Poids de la coque sèche}} \times 100$$

Les échantillons de soie dévidée ont été testés afin de déterminer la cohésion suivant les méthodes standard internationales.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'analyse de variance pour l'effet de la température de cuisson sur la cohésion de la soie grège sont présentés dans le tableau I. Les effets de la température de cuisson sur la cohésion de la soie grège des cocons indiens et japonais sont donnés dans les figures 1 et 2. Les résultats de l'analyse de variance pour l'absorption de l'eau dans le cocon et le contenu en eau de la coque des cocons hybrides bivoltins indiens et japonais sont présentés dans les tableaux II à V. Les effets de la

température de cuisson sur l'absorption de l'eau dans le cocon et sur le contenu en eau de la coque soyeuse des cocons hybrides bivoltins indiens et japonais sont présentés dans les figures 3 à 6.

A la lecture du tableau I, on observe que la température de cuisson a une influence significative sur la cohésion de la soie grège. L'influence de la température de cuisson sur la cohésion de la soie grège est significative au seuil de 1%. Le taux de contribution de la température de cuisson sur la cohésion de la soie grège est de 44,79 %. La figure 1 montre que les attaques moyennes à la cohésion de la soie grège des lots de cocons bivoltins passent de 43 à 139 lorsque la température de cuisson augmente de 90 °C à 96 °C. Il convient de noter que le résultat de 43 obtenu pour les attaques à la cohésion peut être considéré comme médiocre car ce taux ne correspond à aucun grade d'après les normes internationales, et que le résultat de 139 peut être considéré comme excellent puisqu'il correspond à un grade 4A d'après ces mêmes normes.

L'amélioration significative de la cohésion de la soie grège lorsque la température de cuisson augmente peut être attribuée au fait que, lorsque la température de cuisson augmente, le degré de cuisson ainsi que le degré d'amollissement et de gonflement de la séricine augmentent également ; ce qui permet une bonne fixation des baves au fil de soie grège. Une température de cuisson plus faible (90 °C) entraîne un degré de cuisson également plus faible et un manque de cuisson des cocons ; de ce fait, la séricine n'atteint pas le niveau requis d'amollissement et de gonflement. Ceci se traduit par une mauvaise agglutination des baves sur le fil de soie grège, donc d'une cohésion médiocre, même si l'on exerce une force de fixation suffisante sur le fil en laissant une croisure de 8 cm de longueur pendant le dévidage, tandis qu'une température de cuisson de 96 °C permet d'obtenir le degré de cuisson voulu et, donc un amollissement et un gonflement de la séricine de la bave au degré requis dus au passage de l'eau de l'intérieur vers l'extérieur et de l'extérieur vers l'intérieur du cocon. Lorsque les baves des cocons sont passées dans la croisure, dont la longueur est suffisamment importante, pendant le dévidage, on obtient l'agglutination désirée de la bave sur le fil de soie grège et une bonne cohésion de la soie grège.

Si l'on se réfère aux explications données plus haut, on constate, à la lecture des tableaux II et III, que l'influence de la température de cuisson sur le degré de cuisson des cocons est significative au seuil de 1 % aussi bien chez les cocons indiens que chez les cocons japonais. Les figures 3 et 4 montrent que l'absorption de l'eau entraîne une augmentation de 7,9 fois à 9,4 fois du poids du cocon pour les cocons indiens et de 8,6 à 10,4 fois pour les cocons japonais lorsque la température passe de 90 °C à 96 °C. Il faut noter que des degrés de cuisson des cocons de 7,9 et de 8,6 sont insuffisants (Takabayashi, 1985). On observe la même tendance pour la coque soyeuse. A la lecture des tableaux IV et V, on observe que l'influence de la température de cuisson sur le contenu en eau de la coque soyeuse est significative au seuil de 1% chez les cocons indiens et chez les cocons japonais. Les figures 5 et 6 montrent que le contenu en eau de la coque soyeuse augmente de 363,7 % à 441,8 % pour les cocons indiens et de 340,5 % à 435,9 % pour les cocons japonais lorsque la température passe de 90 °C à 96 °C. Les résultats obtenus pour le contenu en eau du cocon et le contenu en eau de la coque indiquent clairement que, pour une durée de cuisson donnée, l'augmentation de la température de cuisson entraîne une hausse du degré de cuisson du cocon et des degrés d'amollissement et de gonflement de la coque soyeuse. L'amollissement et le gonflement de la séricine de la bave du cocon au niveau requis après cuisson à haute température permettent une bonne agglutination de la bave dans le fil de soie grège, sous l'action de la force de fixation exercée pendant le dévidage ; ce qui entraîne une bonne cohésion de la soie grège.

Influence de la qualité du cocon sur la cohésion de la soie grège :

A la lecture du tableau I, il apparaît que l'utilisation de races différentes a également une influence significative sur la cohésion de la soie grège. L'influence des lots de cocons de races différentes sur la cohésion de la soie grège est significative au seuil de 1 %. Le calcul des facteurs de contribution révèle que la contribution des lots de cocons de races différentes sur la cohésion de la soie grège est de 39,07 %. L'inclinaison des droites présentées dans la figure 2 montre que la cohésion de la soie grège diffère selon les races de cocons utilisées pour les trois températures de cuisson considérées, bien que les autres conditions de dévidage soient identiques. Les résultats sont conformes à l'observation faite par Yui et Kobayashi (1962). Il convient de noter que les caractéristiques du cocon,

particulièrement celles de la séricine, sont influencées par la race de ver à soie, les conditions d'élevage et la température et l'humidité maintenues au cours du filage.

CONCLUSION

Sur la base des résultats obtenus, nous pouvons conclure que la température de cuisson des cocons a une influence significative sur la cohésion de la soie grège. La température de cuisson des cocons influence le degré de cuisson des cocons et, donc, l'amollissement et le gonflement de la séricine de la bave du cocon qui, à leur tour, influent sur la cohésion de la soie grège. Si l'on veut produire de la soie grège de bonne cohésion à partir de cocons bivoltins séchés à l'air chaud au niveau optimal, il est nécessaire de cuire les cocons à une température élevée (95 à 96 °C, lorsque le milieu de cuisson utilisé est l'eau) sur une durée déterminée, suivant la qualité du cocon. La variété de cocon a également une influence significative sur la cohésion de la soie grège.

USE OF AN ISOLATION CHAMBER FOR REARING YOUNG AGE (CHAWKI) SILKWORMS IN THE TROPICS

B.M. SEKHARAPPA, E. MUNIRAJU & C.S. GURURAJ

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura,
Bangalore - 560 062, India.

An isolation chamber (180 cm H × 120 cm W × 150 cm D) with a door at the front, having ventilators both at the bottom and top has been designed for young age silkworm (chawki) rearing. Heating and humidifying facilities are added to meet the requirements of chawki rearing. The chamber rearing ensures maintenance of high temperature, high humidity and better hygienic conditions at low cost under tropical conditions. Narrow fluctuations in temperature without using heating (in the absence of electricity) facility and maintenance of higher humidity have been recorded inside the chamber. The rate of moisture loss from the leaf is also lower. Rearing under such conditions resulted in decreased larval duration, increased larval and cocoon weights and improvement of the effective rate of rearing (ERR). The use of the isolation chamber for young age silkworms improves the crop stability and yield by providing a more hygienic rearing environment.

Keywords: Young age silkworm, isolation chamber, humidity, temperature, hygienic.

INTRODUCTION

The rearing of mulberry silkworms is classified into two distinct stages, namely, young age (chawki) and late age, based on their management requirements. Chawki rearing requires high humidity (85 to 90%) and high temperature (28 °C), tender, succulent and nutritive leaves, in addition to less labour, space and equipment. Chawki reared under ideal conditions would reduce the problems experienced during late age rearing considerably, resulting in higher cocoon yield (Omura, 1980; Patil and Visweswara Gowda, 1986; Jolly, 1987; Krishnaswami, 1988). However, the rural chawki rearing centres (CRC's) in general and most of the rearers in particular do not provide the required environmental conditions and hygiene (Jolly, 1987; Benchamin, 1989) during chawki rearing. This is mainly due to the type of rearing house used for this purpose. Considering the prevailing constraints in the field, an "isolation chamber" has been evolved for chawki rearing, which facilitates better maintenance of the required temperature and humidity in addition to protecting chawki larvae from dust and disease contamination, thus improving crop stability and cocoon yield.

The present study is related positively to the temperature factor under normal conditions (non-manipulation) inside the isolation chamber as compared to normal rearings, as the factor predominantly decides the performance of chawki.

MATERIALS AND METHODS

Isolation chamber:

A wooden isolation chamber with the following features has been used for the study (Fig. 1 and 2).

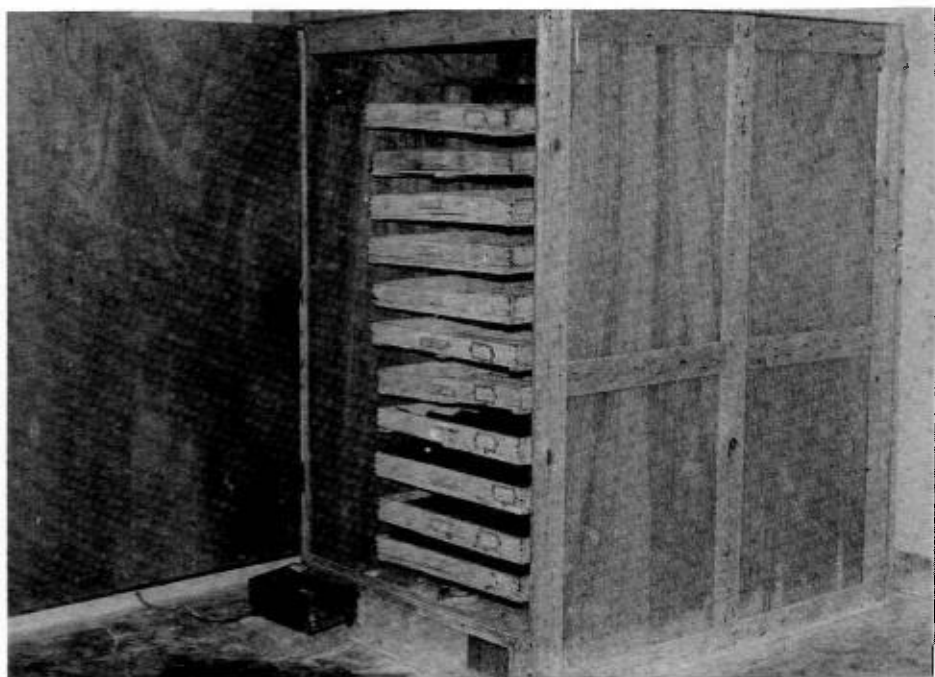


Fig. 1: An isolation chamber.

Fig. 1 : *Chambre d'isolement.*

Features:

(a) Dimensions: Height: 180 cm
 Width: 120 cm
 Depth: 150 cm

(b) Door:

Single door of 165×120 cm with a glass window of 15×23 cm at the centre of the door at a height of 135 cm to 150 cm from the floor for the installation of wet and dry bulb thermometer from inside.

(c) Ventilators:

Two rectangular ventilators of 10×23 cm size at the bottom in front and two circular ventilators of 18 cm diameter size in the roof of the chamber with sliding doors for air flow regulation with uzi-proof mesh fixed for preventing uzi-fly are provided.

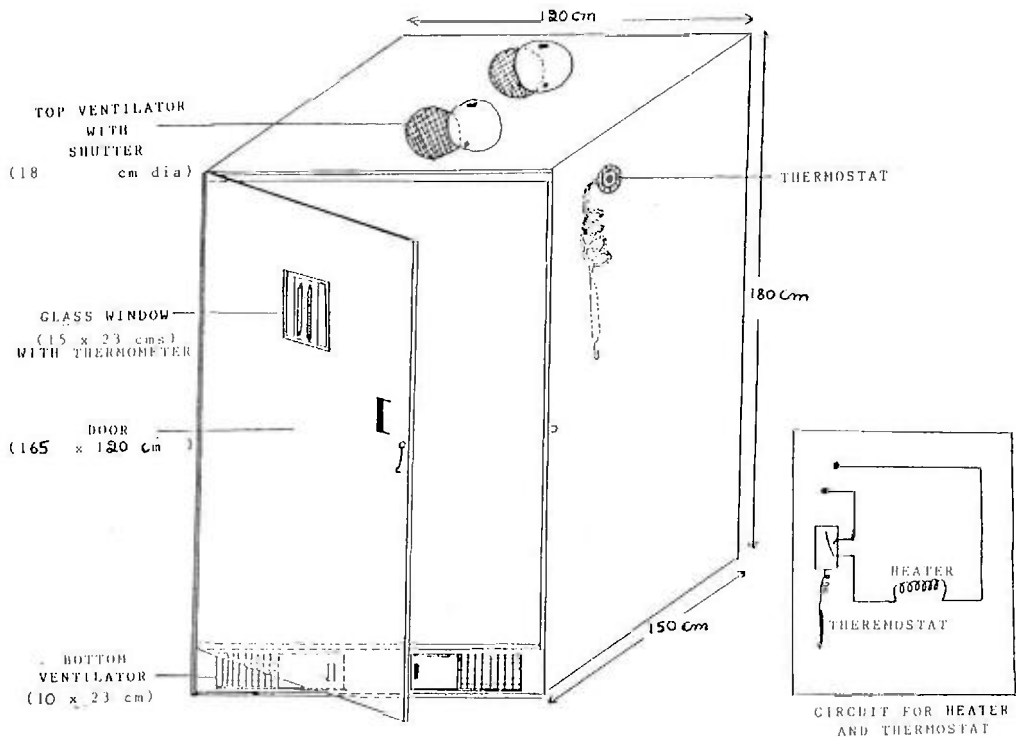


Fig. 2: Line diagram of an isolation chamber.
Fig. 2 : Diagramme d'une chambre d'isolement.

(d) Heating facility:

A blowing type electric room heater of 2 kW connected to a thermostat to regulate the required high temperature could be an additional facility.

(e) Humidity:

Humidity of the chamber is increased by keeping water in a wide tray on the floor of the chamber in addition to the use of wet foam pads around the beds, if necessary.

(f) Ventilation management:

Proper aeration and more uniformity in climate inside the chamber is achieved by operating the lower and upper ventilators. When the heater is attached to one of the bottom ventilators the other is kept closed. The upper ventilators are kept 1/4 open during the beginning of the first instar and as the larvae grow, they are gradually opened to 3/4 by the end of the second instar. Both lower ventilators are to be kept open when the heater is not in use.

All the ventilators are to be kept open half an hour before feeding and also throughout moulting to facilitate bed drying.

Opening of the door of the chamber is restricted to operational necessities.

(g) Rearing capacity:

The described isolation chamber accommodates 14 rearing trays of 90 × 120 cm in size on a rearing stand in which 300 disease-free layings or 6 boxes of eggs can be reared leaving the bottom and top trays as blanks.

Bivoltine and crossbreed mulberry silkworm varieties were reared inside the chamber without using the heater to manipulate the temperature up to the completion of the second moult. The parallel control batches were also reared outside the chamber in the same chawki room. The standard chawki and late age rearing methods were adopted throughout the rearing (Krishnaswami *et al.*, 1973, 1986a, 1986b), except for the trays arranged on the shelves of the stand.

Variations in temperature, humidity and percent moisture loss from the cut leaves and larval growth pattern both inside and outside the chamber were recorded during chawki rearing. The impact of the isolation chamber-raised chawki on late age was studied.

RESULTS

Behaviour of temperature and humidity:

The temperature recorded both inside and outside (in the chawki room) the chamber using a thermohygrograph and wet and dry bulb mercury thermometer revealed the temperature within the chamber to be always less by 0.5 to 1 °C throughout the studies without heater application. Further, the difference between minimum and maximum temperature is also less inside the chamber. This narrow difference is much pronounced during the summer. The humidity is always maintained higher in the chamber than outside, sometimes to a tune of 10 to 15% more depending upon the season. Further, the difference in minimum and maximum humidity variability within 24 hours is much narrower in the chamber. This has been observed to be more prominent during dry seasons (Tables Ia and Ib).

Moisture loss from the cut leaves:

The rate of moisture loss from the cut leaves was lower inside the chamber at any given time of observation. This difference of rate of moisture loss between chamber and outside is very wide during dry seasons like summer and winter (Table II).

Rearing performance:

The larval duration, larval weight at the end of rearing, cocoon characters and ERR were recorded to evaluate the effect of the use of the isolation chamber during chawki rearing on the total rearing performance. The use of the isolation chamber reduced the larval duration by about 1-2 days, increased the larval weight by about 0.1 to 0.4 g, the cocoon weight by about 0.04 to 0.12 g and ERR by 2.5 kg per box, and the data are statistically significant (Tables III and IV).

In addition to this, the growth pattern of larvae and moulting behaviour was observed to be more uniform in experimental batches.

The maintenance of higher temperature and humidity using a room heater and a trough of water below the stand is more effective in the isolation chamber than in the rearing house. The energy required for raising the temperature is also low.

DISCUSSION

The silkworm being poikilothermic like any other insect, its growth and metabolic activities are directly influenced by the external climate in addition to the quality of the leaves it consumes (Hee, 1987).

First and second instar larvae require higher temperature and humidity, stringent hygienic conditions and supply of tender, succulent and nutritious leaves for their robust and fast growth which in turn results in improved cocoon quality and yield (Shimizu, 1972; Krishnaswami *et al.*, 1973; Ullal and Narasimhanna, 1978; Krishnaswami, 1986a; Omura, 1980; Jolly, 1987).

Table Ia. Temperature recorded for a 24 hours' duration inside and outside the isolation chamber.**Tableau Ia.** Température enregistrée sur une période de 24 heures à l'intérieur et à l'extérieur de la chambre d'isolement.

Seasons <i>Saisons</i>	Treatment <i>Traitement</i>	Time / <i>Heure</i>											Diff.
		0 hr*	3 hr	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	21 hr	24 hr	Min.	Max	
Summer <i>Été</i>	Inside / <i>Intérieur</i>	28.36	28.57	28.64	28.71	28.79	28.43	28.21	28.21	28.24	28.21	28.79	0.58
	Outside / <i>Extérieur</i>	29.00	29.14	29.57	29.57	29.64	28.85	28.36	28.78	28.81	28.36	29.64	1.28
Rainy <i>Saison pluvieuse</i>	Inside / <i>Intérieur</i>	23.00	23.08	23.33	23.42	23.33	23.16	23.17	22.91	22.91	22.91	23.41	0.50
	Outside / <i>Extérieur</i>	23.50	23.58	23.75	23.92	23.83	23.58	23.25	23.00	22.92	22.92	23.92	1.00
Winter <i>Hiver</i>	Inside / <i>Intérieur</i>	23.00	23.13	25.38	23.50	23.25	23.13	22.75	22.38	22.75	22.38	23.50	1.12
	Outside / <i>Extérieur</i>	23.25	23.63	24.13	24.00	23.50	23.13	22.88	22.75	23.00	22.75	24.13	1.38

* 0 hour = 8 am / 0 heures = 8.00 h.

Table Ib. Humidity recorded for a 24 hours' duration inside and outside the isolation chamber.

Tableau Ib. Humidité enregistrée sur une période de 24 heures à l'intérieur et à l'extérieur de la chambre d'isolement.

Seasons <i>Saisons</i>	Treatment <i>Traitement</i>	Time / <i>Heure</i>											Diff.
		0 hr*	3 hr	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	21 hr	24 hr	Min.	Max	
Summer <i>Été</i>	Inside / <i>Intérieur</i>	77.14	70.57	75.28	64.00	69.64	69.93	70.86	77.57	77.50	64.00	77.57	13.57
	Outside / <i>Extérieur</i>	74.57	64.29	56.43	48.43	59.14	65.14	70.43	77.57	74.00	48.43	77.57	29.14
Rainy <i>Saison pluvieuse</i>	Inside / <i>Intérieur</i>	88.33	89.17	88.33	88.50	88.17	88.33	88.33	88.50	88.80	88.17	89.17	1.00
	Outside / <i>Extérieur</i>	85.67	84.66	81.33	81.33	83.66	83.50	83.33	83.83	86.50	81.33	86.50	5.17
Winter <i>Hiver</i>	Inside / <i>Intérieur</i>	71.00	71.00	70.88	69.75	68.63	68.63	69.25	69.75	70.00	68.63	71.00	2.37
	Outside / <i>Extérieur</i>	68.25	65.75	56.00	57.50	62.00	68.00	71.00	70.00	68.50	56.00	71.00	15.00

* 0 hour = 8 am / 0 heures = 8:00 h.

Table II. Moisture loss from the cut leaves for a 24 hours' duration inside and outside the isolation chamber.

Tableau II. Perte d'eau des feuilles coupées sur une période de 24 heures à l'intérieur et à l'extérieur de la chambre d'isolement.

Seasons	Treatment	Moisture loss from the cut leaf after					
		3 hr	6 hr	9 hr	12 hr	21 hr	24 hr
<i>Saisons</i>	<i>Traitement</i>	<i>Perte d'eau après</i>					
		3 h	6 h	9 h	12 h	21 h	24 h
Summer <i>Été</i>	Inside / <i>Intérieur</i>	7.50	12.60	18.18	22.44	31.27	36.26
	Outside / <i>Extérieur</i>	8.86	14.57	23.80	29.44	37.78	40.40
	Difference / <i>Différence</i>	1.36	1.97	05.62	7.00	6.51	4.14
Rainy <i>Saison pluvieuse</i>	Inside / <i>Intérieur</i>	5.26	10.45	15.87	21.61	23.87	36.76
	Outside / <i>Extérieur</i>	5.40	11.06	16.00	21.88	35.41	38.75
	Difference / <i>Différence</i>	0.14	0.61	0.13	0.27	11.54	1.99
Winter <i>Hiver</i>	Inside / <i>Intérieur</i>	6.33	12.76	19.87	23.80	36.83	41.30
	Outside / <i>Extérieur</i>	7.29	14.23	22.03	27.57	42.60	47.00
	Difference / <i>Différence</i>	0.96	1.47	2.16	3.77	5.77	5.70

* 3 hr = 11 am / 3 heures = 11:00 h.

Under the present situation, the majority of farmers and the CRC's are unable to provide the required climate, particularly with reference to temperature, humidity and hygiene (Jolly, 1987). This is mainly due to the non-availability of suitable rearing buildings for CRC's and use of a part of the dwelling houses for chawki rearings. This has led to non-stability of cocoon crop and poor quality of cocoons (Jolly, 1987; Benchamin, 1989). Under the prevailing conditions, the variability in temperature and humidity in a day is very wide and chances for disease occurrence is higher. Application of an electric room heater or burning charcoal to raise the temperature for chawki rearing has limitations. The use of the isolation chamber in these situations helps to improve the chawki rearing conditions and also protect the larvae against dust and disease contamination.

Separate chambers for chawki rearing have also been used in temperate countries mainly to maintain required high temperature more effectively at low cost (Yokoyama, 1962; Nanavaty, 1965; Wu and Chen, 1988). However, in tropical countries, the isolation chamber not only helps in maintaining the temperature very well, but also humidity, and prevents pathogen contamination to a large extent.

The decrease in the larval duration, increase in larval weight and improvement of cocoon characters in the larvae reared in the isolation chamber are mainly due to the narrow fluctuation in temperature, better maintenance of humidity and better leaf moisture retention during chawki rearing. Such an approach would ensure crop stability with an increase in the effective rate of rearing.

The cost of a chamber is approximately USD 140 (Rupees 4500) but it can be further brought down by using the walls of the rearing house and vinyl sheets. Rearing inside the chamber gave about

Table III. Comparative rearing performance of bivoltine silkworms (race NB₄D₂) inside and outside the chamber under non-manipulated conditions.

Tableau III. Performance comparative d'élevage des vers à soie bivoltins (race NB₄D₂) à l'intérieur et à l'extérieur de la chambre dans des conditions normales.

Treatment	Chawki loss (%)	Larval duration (hours)		Larval weight (g)		Cocoon assessment		ERR/10000 larvae after 3rd moult	
		Young age	Total	After 2nd moult (of 50)	Max. wt. per larva	Single cocoon wt. (g)	Cocoon shell ratio (%)	Number	Weight (kg)
<i>Traitement</i>	<i>Perte de jeunes larves (%)</i>	<i>Durée larvaire (heures)</i>		<i>Poids larvaire (g)</i>		<i>Evaluation des cocons</i>		<i>ERR/10000 larves après la 3e mue</i>	
		<i>Jeune âge</i>	<i>Total</i>	<i>Après la 2e mue (de 50)</i>	<i>Poids max. /larve</i>	<i>Poids du cocon (g)</i>	<i>Richesse soyeuse (%)</i>	<i>Nombre</i>	<i>Poids (kg)</i>
Summer / Eté:									
I	3.92	180	592	1.89	4.26	1.71	19.35	8170	13.939
O	6.32	190	624.5	1.79	4.01	1.67	18.97	7635	12.899
F test / Test F	S	S	HS	S	HS	HS	NS	NS	S
CD at 5%	2.126	7.46	6.44	0.195	0.03	0.008	1.287	1162.6	1.027
CD at 1%	5.125	13.698	11.83	0.358	0.057	0.015	2.362	2134	1.921
Rainy / Saison pluvieuse:									
I	5.15	200.3	629.8	2.15	4.67	1.93	20.27	8875	16.47
O	6.45	215.3	689.3	1.69	4.50	1.80	20.12	8783	15.69
F test / Test F	NS	HS	HS	HS	HS	HS	HS	NS	S
CD at 5%	3.816	4.773	30.27	0.153	0.15	0.002	0.522	956.06	1.419
CD at 1%	7.005	8.762	55.57	0.281	0.275	0.004	0.958	1755.04	2.605
Winter / Hiver:									
I	5.46	196	628.0	1.94	4.72	2.05	19.68	7940	16.049
O	9.07	228	684.0	1.78	4.68	1.95	20.04	7231	14.107
F test / Test F	HS	HS	HS	HS	NS	HS	NS	S	HS
CD at 5%	0.856	10.216	22.854	0.045	0.163	0.062	0.6428	500.1	1.181
CD at 1%	1.245	12.846	32.061	0.05	0.237	0.09	0.935	741.16	1.719

ERR: Effective rate of rearing / Rendement en cocons.

I: Inside / Intérieur.

O: Outside / Extérieur.

HS: Significant at 5% / Significatif au seuil de 5 %.

S: Significant at 1% / Significatif au seuil de 1 %.

NS: Not significant / Non significatif.

Table IV. Comparative rearing performance of the crossbreed PM × NB₄D₂ inside and outside the chamber under non-manipulated conditions.

Tableau IV. Performance comparative d'élevage de l'hybride PM × NB₄D₂ à l'intérieur et à l'extérieur de la chambre dans des conditions normales.

Treatment	Chawki loss (%)	Larval duration (hours)		Larval weight (g)		Cocoon assessment		ERR/10000 larvae after 3rd moult	
		Young age	Total	After 2nd moult (of 50)	Max. wt. per larva	Single cocon wt. (g)	Cocoon shell ratio (%)	Number	Weight (kg)
<i>Traitement</i>	<i>Perte de jeunes larves (%)</i>	<i>Durée larvaire (heures)</i>		<i>Poids larvaire (g)</i>		<i>Evaluation des cocons</i>		<i>ERR/10000 larves après la 3^e mue</i>	
		<i>Jeune âge</i>	<i>Total</i>	<i>Après la 2^e mue (de 50)</i>	<i>Poids max. /larve</i>	<i>Poids du cocon (g)</i>	<i>Richesse soyeuse (%)</i>	<i>Nombre</i>	<i>Poids (kg)</i>
Summer / Été:									
I	2.25	177.0	568.0	1.15	3.89	1.76	17.20	8496	14.605
O	2.12	183.5	616.5	1.00	3.64	1.69	16.97	8127	13.520
F test / Test F	NS	S	HS	S	HS	S	NS	NS	S
CD at 5%	3.446	4.593	30.961	0.092	0.079	0.062	0.276	584.23	0.697
CD at 1%	6.142	8.431	45.163	0.167	0.146	0.118	0.506	1072.44	1.280
Rainy / Saison pluvieuse:									
I	7.17	186.0	582.0	1.17	4.418	1.94	18.17	9452	18.320
O	7.68	192.0	612.0	1.16	4.156	1.90	17.42	9108	17.008
F test / Test F	NS	HS	HS	NS	S	S	HS	NS	S
CD at 5%	1.518	2.813	23.606	0.035	0.244	0.0317	0.381	461.52	1.2115
CD at 1%	2.208	4.060	31.096	0.050	0.355	0.0444	0.555	671.42	2.0093
Winter / Hiver:									
I	6.24	196.0	628.0	1.15	4.45	1.86	16.70	9468	16.260
O	7.80	212.0	672.0	1.11	4.284	1.68	16.43	9256	14.824
F test / Test F	NS	HS	HS	HS	HS	HS	NS	NS	S
CD at 5%	1.6114	8.913	32.801	0.024	0.071	0.099	0.976	415.75	1.459
CD at 1%	2.3445	10.824	40.332	0.035	0.103	0.143	1.420	604.87	2.122

ERR: Effective rate of rearing / *Rendement en cocons.*

I: Inside / *Intérieur.*

O: Outside / *Extérieur.*

HS: Significant at 5% / *Significatif au seuil de 5 %.*

S: Significant at 1% / *Significatif au seuil de 1 %.*

NS: Not significant / *Non significatif.*

15 kg more yield in the laboratory and 15 to 45 kg in the field (per chamber/6 boxes of eggs). Therefore, use of the isolation chamber will give an additional income of about USD 50-150 per crop and it is very well accepted by the rearers at field level.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors deeply acknowledge the Director, Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, and others who are directly and indirectly responsible for the completion of this work.

REFERENCES

- BENCHAMIN K.V. (1989) Chawki rearing management. Workshop on Chawki Management, Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Bangalore, 19th October.
- HEE C.B. (1987) Sericulture Technology. Seoul National University Press, pp. 52-144.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMARARAJ S. (1973) Manual on Sericulture. Vol. 2 Silkworm rearing. FAO Agric. Services, Rome, Bull. 15, pp. 54-82.
- KRISHNASWAMI S. (1986a) Improved method of rearing young age (chawki) silkworms. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, Bull. 3.
- KRISHNASWAMI S. (1986b) Improved method of rearing late age (chawki) silkworms. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, Bull. 2.
- KRISHNASWAMI S. (1988) Chawki — The crucial input for the success of sericulture. Indian Silk, 26(10), 82-87.
- JOLLY M.S. (1987) Chawki rearing — Concept, organisation, management. Indian Silk, 25(9), 32-37.
- NANAVATY M.M. (1965) Silk from Grub to Glamour. India Paramount Publishing House, Bombay, 139 pp.
- OMURA S. (1980) Silkworm Rearing Techniques in the Tropics. Japanese International Co-operation Agency, Tokyo, pp. 84-270.
- PATIL G.M., VISWESWARA GOWDA (1986) Environmental adjustment in sericulture. Indian Silk, 25(3), 11-14.
- SHIMIZU M. (1972) Handbook of silkworm rearing. Fuji Publishing Co. Ltd., Tokyo, pp. 149-159.
- ULLAL S.R., NARASIMHANNA M.N. (1978) Handbook of Practical Sericulture. Central Silk Board, Bombay, pp. 67-120.
- WU P.-C., CHEN D.-C. (1988) Silkworm Rearing. FAO Agricultural Services, Rome, Bull. 73/2, pp. 33-70.
- YOKOYAMA (1962) Synthesised Science of Sericulture. Central Silk Board, Bombay, pp. 282-314.

UTILISATION D'UNE CHAMBRE D'ISOLEMENT POUR L'ELEVAGE DES JEUNES LARVES (CHAWKI) DE VER A SOIE EN MILIEU TROPICAL

B.M. SEKHARAPPA, E. MUNIRAJU & C.S. GURURAJ

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura,
Bangalore - 560 062, Inde.

On a conçu une chambre d'isolement (hauteur × largeur × profondeur : 180 cm × 120 cm × 150 cm) pourvue d'aérateurs aux deux extrémités verticales destinée à l'élevage des jeunes larves (chawki) de vers à soie. Des systèmes de chauffage et d'humidification ont été ajoutés pour répondre aux exigences de l'élevage des jeunes larves. L'élevage en chambre permet le maintien d'une température et d'une humidité élevées ; il assure de meilleures conditions d'hygiène pour un coût peu élevé en milieu tropical. On enregistre des fluctuations faibles de la température sans utilisation de chauffage (en l'absence d'électricité) et le maintien d'une humidité plus élevée dans la chambre d'élevage. Le taux de perte d'eau de la feuille de mûrier est également plus faible. Ces conditions d'élevage permettent d'obtenir une diminution de la durée larvaire, une augmentation du poids de la larve et du cocon et une amélioration du taux effectif d'élevage. L'utilisation d'une chambre d'isolement pour jeunes larves entraîne une amélioration de la stabilité de la récolte et du rendement en assurant des conditions d'élevage plus hygiéniques.

INTRODUCTION

L'élevage du ver à soie se divise en deux étapes distinctes, chacune caractérisée par des besoins spécifiques : l'élevage des jeunes larves (chawki) et l'élevage des larves matures. L'élevage "chawki" demande des conditions d'humidité (85 à 90 %) et de température (28 °C) élevées, des feuilles tendres, charnues et nutritives et nécessite moins de main d'oeuvre, d'espace et d'équipements. L'élevage des jeunes larves en conditions optimales permettrait de diminuer fortement les problèmes rencontrés lors de l'élevage des larves matures et entraînerait une augmentation du rendement en cocons (Omura, 1980 ; Patil et Visweswara Gowda, 1986 ; Jolly, 1987 ; Krishnaswami, 1988). Cependant, les centres d'élevage "chawki" (CRC) ruraux en général et la plupart des éleveurs n'offrent pas les conditions environnementales et l'hygiène requises (Jolly, 1987 ; Benchamin, 1989) pour l'élevage "chawki". Ceci est principalement dû au type de local d'élevage utilisé. Etant donné les contraintes rencontrées sur le terrain, une "chambre d'isolement" a été mise au point pour l'élevage des jeunes larves afin d'assurer un meilleur maintien de la température et de l'humidité optimales et de protéger les jeunes larves des poussières et des maladies, ceci dans le but d'améliorer la stabilité des récoltes et le rendement en soie.

Cette étude concerne directement le facteur température dans des conditions normales (sans manipulation) à l'intérieur de la chambre d'élevage par rapport aux élevages normaux car c'est un paramètre déterminant pour la performance des jeunes larves.

MATERIELS ET METHODES

Chambre d'isolement :

On a utilisé une chambre d'isolement en bois dont les caractéristiques sont présentées dans les figures 1 et 2 et ci-après.

Caractéristiques :

(a) Dimensions : Hauteur : 180 cm
Largeur : 120 cm
Profondeur : 150 cm

(b) Porte :

Une seule porte de 165 × 120 cm avec une fenêtre en verre de 15 × 23 cm située au milieu de la porte à une hauteur de 135 cm à 150 cm du plancher avec un emplacement pour un thermomètre à boule pour température en atmosphère humide et température en atmosphère sèche.

(c) Aérateurs :

Deux aérateurs rectangulaires de 10 × 23 cm situés en bas et sur le devant et deux aérateurs circulaires de 18 cm de diamètre sur le toit de la chambre avec des portes coulissantes pour la régulation de la circulation de l'air et sur lesquels sont fixés des filets de protection contre la mouche uzi.

(d) Système de chauffage :

Il est possible d'ajouter un radiateur électrique à convection de chambre de 2 kW branché à un thermostat pour réguler la température élevée requise.

(e) Humidité :

L'humidité de la chambre peut être augmentée en plaçant de l'eau dans une grande bassine sur le plancher de la chambre ou en posant des tampons en mousse humides autour des litières, si nécessaire.

(f) Système d'aération :

On obtient une bonne aération et un climat plus uniforme à l'intérieur de la chambre en actionnant les aérateurs inférieurs et supérieurs. Lorsque le radiateur est relié à l'un des aérateurs inférieurs, l'autre est fermé. Les aérateurs supérieurs sont laissés entrouverts (1/4) au début du premier âge ; à mesure que les larves vieillissent, ils sont progressivement ouverts jusqu'aux trois quarts à la fin du deuxième âge. Les deux aérateurs inférieurs doivent être tenus ouverts lorsque le radiateur est arrêté.

Tous les aérateurs doivent être ouverts pendant une demi-heure avant le nourrissage et pendant toute la durée de la mue afin de faciliter le séchage des litières.

L'ouverture de la porte doit se restreindre aux besoins de l'élevage.

(g) Capacité d'élevage :

La chambre d'isolement décrite peut contenir 14 litières de 90 × 120 cm sur une colonne d'élevage prévue pour 300 pontes saines, ou 6 boîtes d'oeufs, en laissant vides la litière supérieure et la litière inférieure.

Des variétés de ver à soie du mûrier bivoltines et hybrides ont été élevées dans la chambre d'élevage jusqu'à la fin de la deuxième mue. Le radiateur n'a pas été utilisé pour réguler la température. Des lots témoins ont été élevés simultanément à l'extérieur de la chambre d'isolement mais à l'intérieur de la même pièce d'élevage. On a suivi les méthodes d'élevage standard pour jeunes larves et larves matures pendant toute la durée de l'expérience (Krishnaswami et coll., 1973, 1986a, 1986b), sauf en ce qui concerne le type de claies placées sur les étagères de la colonne.

Les variations de température, d'humidité et de pourcentage de perte d'eau des feuilles de mûrier coupées et le profil de croissance des larves à l'intérieur et à l'extérieur de la chambre d'élevage ont été enregistrées au cours de l'élevage "chawki". L'impact de l'élevage "chawki" en chambre d'isolement sur les larves matures a été étudié.

RESULTATS

Variation de la température et de l'humidité :

Les données enregistrées à l'intérieur et à l'extérieur (dans la pièce d'élevage "chawki") de la chambre d'isolement à l'aide d'un thermohygrographe et d'un thermomètre à mesure de température sèche et de température humide révèlent que la température à l'intérieur de la chambre d'isolement est toujours inférieure de 0,5 à 1 °C à celle de la pièce pendant toutes les expériences sans utilisation du radiateur. De plus, la différence entre la température maximale et la température minimale est également plus faible à l'intérieur de la chambre d'isolement. Cette diminution de la différence est très prononcée en été. L'humidité est toujours plus élevée à l'intérieur de la chambre qu'à l'extérieur, parfois de 10 à 15 % suivant la saison. La différence de variabilité de l'humidité maximale et minimale sur 24 heures est également beaucoup plus faible à l'intérieur de la chambre d'isolement, particulièrement pendant les saisons sèches (Tableaux Ia et Ib).

Perte d'eau des feuilles coupées :

Le taux de perte d'eau des feuilles coupées est plus faible à l'intérieur de la chambre d'isolement, quel que soit le moment considéré. Cette différence de taux de perte d'eau entre la chambre et l'extérieur est très élevée pendant les saisons sèches comme l'été ou l'hiver (Tableau II).

Performance d'élevage :

La durée larvaire, le poids larvaire à la fin de l'élevage, les caractères du cocon et le taux effectif d'élevage ont été relevés afin d'évaluer l'effet de l'utilisation de la chambre d'isolement pour l'élevage "chawki" sur la performance globale de l'élevage. L'utilisation de la chambre d'isolement entraîne une réduction de la durée du stade larvaire de 1 à 2 jours, une augmentation du poids larvaire de l'ordre de 0,1 à 0,4 g, du poids du cocon d'environ 0,04 à 0,12 g et du taux effectif d'élevage de 2,5 kg par boîte. Les données sont statistiquement significatives (Tableaux III et IV).

De plus, le profil de croissance des larves et le comportement de mue est plus uniforme chez les lots expérimentaux.

L'utilisation d'un radiateur et d'une bassine d'eau sous la colonne d'élevage pour maintenir la température et l'humidité à un niveau élevé est plus efficace dans la chambre d'isolement que dans la pièce d'élevage. La quantité d'énergie nécessaire pour augmenter la température est également plus faible.

DISCUSSION

Le ver à soie étant de nature poïkilotherme comme tous les insectes, sa croissance et ses activités métaboliques sont directement influencées par le climat extérieur ainsi que par la qualité des feuilles consommées (Hee, 1987).

L'amélioration de la qualité et du rendement en cocons dépend de la robustesse et de la croissance des larves du premier et du deuxième âge, qui elles-mêmes requièrent une température et une humidité élevées, des conditions d'hygiène strictes et un nourrissage avec des feuilles tendres, charnues et nutritives (Shimizu, 1972 ; Krishnaswami et coll., 1973 ; Ullal et Narasimhanna, 1978 ; Krishnaswami, 1986a ; Omura, 1980 ; Jolly, 1987).

Actuellement, la majorité des fermiers et des centres d'élevage de jeunes larves sont incapables d'assurer les conditions requises, particulièrement au niveau de la température, de l'humidité et de l'hygiène (Jolly, 1987). Ceci est principalement dû à l'absence de locaux d'élevage appropriés pour les centres d'élevage "chawki" et à l'élevage des jeunes larves dans les locaux d'habitation. Ceci se traduit par une instabilité des récoltes et une qualité médiocre des cocons (Jolly, 1987 ; Benchamin, 1989). Dans ces conditions, la variabilité de la température et de l'humidité sur une journée est très élevée et les risques d'apparition de maladies plus importants. L'utilisation d'un radiateur électrique ou de charbon de bois pour augmenter la température des pièces d'élevage "chawki" n'est pas toujours possible. L'utilisation de la chambre d'isolement dans ces situations permet d'améliorer les conditions d'élevage "chawki" et de protéger les larves des poussières et des maladies.

L'élevage des jeunes larves en chambre d'isolement est connu dans les pays tempérés et est pratiqué surtout pour maintenir la température au niveau requis de manière plus rentable (Yokoyama, 1962 ; Nanavaty, 1965 ; Wu et Chen, 1988). Cependant, dans les pays tropicaux, la chambre d'isolement permet d'obtenir une bonne régulation non seulement de la température, mais également de l'humidité et, ainsi, de prévenir une contamination par des agents pathogènes.

La diminution de la durée larvaire, l'augmentation du poids larvaire et l'amélioration des caractères des cocons issus des larves élevées en chambre d'isolement sont principalement dues aux faibles fluctuations de la température, à un meilleur maintien de l'humidité et à une meilleure rétention de l'eau au cours de l'élevage "chawki". Cette méthode permet d'assurer une stabilité des récoltes et une augmentation du taux effectif d'élevage.

Le coût d'une chambre d'isolement est d'environ USD 140 (4 500 roupies) mais il peut être diminué en utilisant les murs de la pièce d'élevage et des feuilles de vinyle. L'élevage à l'intérieur de la chambre d'isolement donne un rendement supérieur d'environ 15 kg en laboratoire et de 15 à 45 kg chez les fermiers (par chambre/6 boîtes d'ocufs). L'utilisation de la chambre d'isolement donnera donc un revenu supplémentaire de l'ordre de USD 50 à 150 par récolte ; elle est, en outre, très bien acceptée par les éleveurs.

BIOLOGICAL DEVELOPMENT OF PURE SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) BREEDS AND HYBRIDS IN SPRING AND FALL¹

J.O. ARNAUT DE TOLEDO², R. TAKAHASHI³ & E.B. MALHEIROS⁴

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP,
Rodovia Carlos Tonanni km 5, 14870-000 Jaboticabal, São Paulo, Brazil.

An experiment was conducted at the Sericulture Sector of the Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAVJ)-UNESP with the objective of determining the biological performance (number of larvae at the beginning of each instar, larval weight at the end of the 5th instar, number of formed cocoons, number of emerged moths, number of male and female moths, and number of eggs per moth) of two pure breeds, BC₁ (Chinese) and AJ₁ (Japanese), and of hybrids obtained from their crosses, BC₁ × AJ₁ (H₁) and AJ₁ × BC₁ (H₂), during two different seasons, i.e., spring (S₁) and fall (S₂). Hybrids H₁ and H₂ were superior to the pure breeds in terms of most of the parameters analyzed, especially number of formed cocoons, which was significantly higher ($P < 0.05$), with a mean percentage of 90.7% formed cocoons during S₁ and a degree of heterosis of 12.34% (H₁) and 9.43% (H₂). During S₂, the mean number of formed cocoons was 76.9% and the degree of heterosis was 32.04% (H₁) and 27.98% (H₂). The number of cocoons formed during S₁ was 26.79% higher compared to S₂.

Keywords: Silkworm, biology, pure and hybrid breeds.

INTRODUCTION

The breeding of silkworms (*Bombyx mori* L.), whose major product is silk thread, is an activity of great economic interest in Brazil, which occupies the fifth place in the world in the production of green cocoons, for a total of 17,000 tonnes, with a production of approximately 2000 tonnes silk thread.

Productivity, i.e., number of cocoons obtained per gram reared eggs, has significantly increased over the last few years.

Worldwide studies on silkworms have proved that greater silk production depends on two major conditions: rational silkworm rearing and the use of breeds and cocoons with improved combining ability (Paolieri, 1965), i.e., the ability to transmit the desired traits of each initial breed (Abreu, 1971).

To obtain highly productive species, several studies have been conducted by crossing different breeds and selecting those whose potential has been proved in experimental fields (Okino, 1989). Hybrids are used today for commercial exploitation in order to take advantage of heterosis, especially between Japanese and Chinese breeds.

1. Part of the Master's thesis of the first author, who was the recipient of fellowships from FAPESP and CNPq.

2. Zootechnician, holder of a Master's degree in Genetic Animal Breeding, FCAV-Jaboticabal Campus.

3. Assistant Professor, DZNR - FCAVJ-UNESP.

4. Associate Professor, Department of Exact Sciences, FCAVJ-UNESP.

The objective of the present study was to determine the biological performance (number of larvae at the beginning of each instar, larval weight at the end of the 5th instar, number of formed cocoons, number of moths emerged, number of male and female moths, and number of eggs per moth) of two silkworm pure breeds and of two hybrids.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out at the Sericulture Sector of the Department of Non-Ruminant Animal Husbandry, Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences of Jaboticabal, SP (FCAVJ-UNESP).

Two pure breeds, BC₁ (Chinese) and AJ₁ (Japanese), and two hybrids, BC₁ × AJ₁ (H₁) and AJ₁ × BC₁ (H₂), were used starting on the first day of the first instar to determine the biological performance of silkworms in a study carried out with 5 replications during two different seasons, i.e., spring (S₁) and fall (S₂). We used 210 larvae per parcel per pure breed and hybrid during S₁, and 200 larvae per parcel per pure breed and hybrid during S₂.

The larvae were allowed to feed daily at 7:30, 10:30, 13:30, 16:30 and 19:30 hours, and temperature and relative humidity were recorded at each feeding time.

The mean data are listed in Table I, with a mean temperature of 26.1 °C and relative humidity of 79.2% for S₁, and respective mean values of 24.2 °C and 86.4% for S₂.

For cocoon spinning we used plastic mats for each parcel and for moth egg-laying we used plastic cups. To determine the mean number of eggs, 5 ovipositions per parcel were collected at random.

Data were analyzed statistically by the Statistical Analysis System software with a fully randomized design. The Tukey test was used to compare means, with the level of significance set at 5%. Joint analysis was used to determine the effect of season on all parameters analyzed.

RESULTS AND DISCUSSION

Number of larvae at the beginning of each instar:

No significant difference ($P > 0.05$) in number of larvae at the beginning of each instar was observed between treatments in terms of the larvae that reached 2nd and 3rd instar. Also, no effect of interaction ($P > 0.05$) was observed during the third instar. However, there was a difference in the effect of interaction in terms of larvae that reached 2nd, 4th and 5th instar, as well as in the effect of season ($P < 0.05$) (Table II).

During S₁, H₁ and H₂ hybrids showed a tendency to better adaptation, with an average of 93.57% live larvae reaching the end of the 5th instar. For pure breeds, this mean survival rate was 90.09%.

During S₂, the hybrids and the pure breed BC₁ presented a 26.38% higher rate of larval survival compared to AJ₁ at the beginning of the 5th instar.

Larval weight at the end of the 5th instar:

There was a significant difference ($P < 0.05$) between treatments, between seasons and in the interaction between the two factors (Table II).

During S₁, hybrid larvae weighed less than pure breed larvae. This was possibly due to the larger number of pure breed larvae that died at the beginning of the 5th instar (Table II), with surviving larvae having more space on the rearing mats and competing less for food.

During S₂, mean larval weight was similar for the two hybrids and was approximately 2.3% higher than for the pure breeds. These results were also due to the number of larvae that died during the last instar and the effect of temperature at this time of year, since an abrupt fall in ambient temperature occurred when the larvae were in the 4th instar (Table I). Thus, the larvae reduced their ingestion of mulberry leaves and their weight was affected at the end of the 5th instar.

Number of formed cocoons:

There was a significant effect of treatment (T) and season (S), as well as of T × S interaction, indicating that the effects on hybrids and pure breeds were not the same within each season (Table III).

Table I. Mean temperature and relative air humidity in the rearing environment during two different seasons of silkworm breeding.

Tableau I. Température et humidité relative de l'air moyennes de l'environnement d'élevage au cours des deux saisons d'élevage du ver à soie.

Season	Instar	Temperature (°C)			Relative humidity (%)		
		Maximum	Minimum	Mean	Maximum	Minimum	Mean
Saison	Age	Température (°C)			Humidité relative (%)		
		Maximum	Minimum	Moyenne	Maximum	Minimum	Moyenne
1	1st / 1 ^{er}	28	23	25.9	90	75	82.4
	2nd / 2 ^e	31	24	27.4	90	74	78.5
	3rd / 3 ^e	31	25	28.0	90	62	74.9
	4th / 4 ^e	30	20	24.4	90	64	80.0
	5th / 5 ^e	28	21	24.6	91	68	80.1
2	1st / 1 ^{er}	29	24	27.1	91	75	85.7
	2nd / 2 ^e	28	23	25.6	91	75	84.1
	3rd / 3 ^e	26	22	23.8	90	82	88.4
	4th / 4 ^e	22	18	19.8	90	89	89.2
	5th / 5 ^e	28	20	24.6	91	64	84.9

Season 1: October 4, 1990 to November 16, 1990, spring. Season 2: March 18, 1991 to May 8, 1991, fall.

Saison 1 : 4 octobre 1990 au 16 novembre 1990, printemps. Saison 2 : 18 mars 1991 au 8 mai 1991, automne.

During S₁, 91.90% of H₁ larvae spun their cocoons, as opposed to 89.52% observed for H₂, with a 3.38% difference. As to pure breeds, 85.24% of BC₁ larvae and 78.38% of AJ₁ larvae spun their cocoons.

According to Pereira (1983), the degree of heterosis is evaluated in terms of the superiority of the mean for the F₁ generation to the mean for the parental generation. In the present study, H₁ was 12.34% higher than for the parents and H₂ was 9.43% higher, justifying the commercial use of these hybrids by filatures.

For S₂, 78.10% of H₁ larvae and 75.70% of H₂ larvae spun their cocoons, and 73.80% and 44.5% of BC₁ and AJ₁ pure breed larvae spun their cocoons, respectively, with AJ₁ being the most sensitive to changes in temperature.

As to heterosis, H₁ presented 32.04% superiority compared to the parents, and H₂, 27.98%.

In general, it can be seen that the number of cocoons formed during S₁ was 33.15% higher than in S₂ and this decrease was due to a fall in temperature during S₂ rather than to genetic factors, since the same pure breeds and hybrids were used, demonstrating the importance of temperature control during the cocoon-spinning phase.

Number of moths emerged:

There was a significant difference ($P < 0.05$) between treatments and seasons but not in their interaction ($P > 0.05$) (Table III). The mean number of hybrid moths emerged was 168.68, i.e., an 82.06% higher rate compared to the pure breeds, which presented a mean number of 89.90 moths emerged during S₁.

Table II. F value, coefficient of variation (CV%) and mean number of larvae at the beginning of each instar and larval weight (g) at the end of the 5th instar for each pure breed and hybrid at two different times (S₁ and S₂).

Tableau II. Valeur de F, coefficient de variation (CV%), nombre moyen de larves au début de chaque âge et poids larvaire (g) à la fin du 5e âge pour chacune des races pures et chacun des hybrides à deux époques différentes (S₁ et S₂).

	F values / Valeurs de F				
	2nd instar	3rd instar	4th instar	5th instar	Larval weight at the end of 5th instar
	2e âge	3e âge	4e âge	5e âge	Poids larvaire à la fin du 5e âge
Treatment / Traitement (T)	2.06 ^{NS}	2.20 ^{NS}	4.24 [*]	9.53 ^{**}	3.54 [*]
Season / Saison (S)	8.01 ^{**}	18.15 ^{**}	35.62 ^{**}	48.11 ^{**}	166.25 ^{**}
T × S interaction / Interaction T × S	3.06 [*]	2.13 ^{NS}	4.78 ^{**}	7.09 ^{**}	16.48 ^{**}
CV%	4.74	4.76	5.44	6.04	2.49
S₁ means / Moyennes S₁ :					
F for (T) / F pour (T)	0.80 ^{NS}	1.14 ^{NS}	1.56 ^{NS}	1.73 ^{NS}	3.50 [*]
BC ₁	193.80	191.40	188.80	188.80	4.14 A ¹
AJ ₁	196.00	194.20	193.00	189.60	4.01 AB
BC ₁ × AJ ₁	203.00	202.40	202.40	201.80	3.93 B
AJ ₁ × BC ₁	192.80	191.80	191.60	191.20	3.98 AB
LSD	-	-	-	-	(0.19)
S₂ means / Moyennes S₂ :					
F for (T) / F pour (T)	9.60 ^{**}	4.73 [*]	8.18 ^{**}	13.57 ^{**}	17.03 ^{**}
BC ₁	194.40 A	188.20 A	185.20 A	183.40 A	4.25 B
AJ ₁	176.80 B	173.20 B	157.40 B	141.00 B	4.30 B
BC ₁ × AJ ₁	188.80 A	185.40 AB	178.40 A	176.20 A	4.61 A
AJ ₁ × BC ₁	193.00 A	184.60 AB	179.00 A	175.00 A	4.60 A
LSD	(10.44)	(12.31)	(17.16)	(20.83)	(0.19)

S₁: spring; S₂: fall; BC₁ (male) × AJ₁ (female): hybrid with a Chinese father; AJ₁ (male) × BC₁ (female): hybrid with a Japanese father; BC₁: pure Chinese breed (males and females); AJ₁: pure Japanese breed (males and females); LSD: least significant difference; NS: non significant at the 5% level; *: significant at the 5% level; **: significant at the 1% level.

1. Means followed by equal letters in the columns did not differ significantly by the Tukey test.

S₁: printemps; S₂: automne; BC₁ (mâle) × AJ₁ (femelle): hybride avec un père chinois; AJ₁ (mâle) × BC₁ (femelle): hybride avec un père japonais; BC₁: souche chinoise pure (mâles et femelles); AJ₁: souche japonaise pure (mâles et femelles); LSD: différence la moins significative; NS: non significatif au seuil de 5%; *: significatif au seuil de 5%; **: significatif au seuil de 1%.

1. Les moyennes suivies d'une même lettre dans une même colonne ne diffèrent pas entre elles de manière significative d'après le test de Tukey.

Table III. F value, coefficient of variation (CV%), and mean number of formed cocoons, total number of moths, number of male and female moths and number of eggs per moth for two seasons (S₁ and S₂) for each pure breed and hybrid.

Tableau III. Valeur de F, coefficient de variation (CV%), nombre moyen de cocons filés, nombre total de papillons, nombre de papillons mâles et femelles et nombre d'oeufs par papillon obtenus pour deux saisons (S₁ et S₂) et pour chacune des races pures et chacun des hybrides.

	F values / Valeurs de F				
	Number of cocoons formed	Total number of moths	Number of male moths	Number of female moths	Number of eggs per moth
	Nombre de cocons filés	Nombre total de papillons	Nombre de papillons mâles	Nombre de papillons femelles	Nombre d'oeufs par papillon
Treatment / Traitement (T)	22.42**	18.75**	9.54**	23.46**	8.96**
Season / Saison (S)	95.89**	15.82**	11.16**	14.26**	37.84**
T × S interaction / Interaction T × S	5.07**	0.88 ^{NS}	0.46 ^{NS}	2.54 ^{NS}	1.60 ^{NS}
CV%	9.09	24.72	31.84	23.99	7.50
S₁ means / Moyennes S₁ :					
F for (T) / F pour (T)	6.39**	10.75**	7.79**	11.32**	5.60*
BC ₁	179.00 A ¹ B	84.20 B	48.60 B	35.60 B	579.56 AB
AJ ₁	164.60 B	95.60 B	43.20 B	52.40 B	511.72 B
BC ₁ × AJ ₁	193.00 A	164.75 A	82.25 A	82.50 A	554.55 AB
AJ ₁ × BC ₁	188.00 A	162.60 A	77.20 A	85.40 A	599.36 A
S₂ means / Moyennes S₂ :					
F for (T) / F pour (T)	17.07**	8.39**	2.96 ^{NS}	16.31**	5.49*
BC ₁	147.60 A	73.80 B	35.40	38.40 B	619.00 B
AJ ₁	89.00 B	56.40 B	30.40	26.00 B	599.56 B
BC ₁ × AJ ₁	156.20 A	119.60 A	53.20	66.40 A	664.76 AB
AJ ₁ × BC ₁	151.40 A	120.60 A	59.80	60.80 A	722.12 A
LSD	(30.91)	(45.45)	-	(19.00)	(94.16)

S₁: spring; S₂: fall; BC₁ (male) × AJ₁ (female): hybrid with a Chinese father; AJ₁ (male) × BC₁ (female): hybrid with a Japanese father; BC₁: pure Chinese breed (males and females); AJ₁: pure Japanese breed (males and females); LSD: least significant difference; NS: non significant at the 5% level; *: significant at the 5% level; **: significant at the 1% level.

1. Means followed by equal letters in the columns did not differ significantly by the Tukey test.

S₁: printemps; S₂: automne; BC₁ (mâle) × AJ₁ (femelle): hybride avec un père chinois; AJ₁ (mâle) × BC₁ (femelle): hybride avec un père japonais; BC₁: souche chinoise pure (mâles et femelles); AJ₁: souche japonaise pure (mâles et femelles); LSD: différence la moins significative; NS: non significatif au seuil de 5%; *: Significatif au seuil de 5%; **: Significatif au seuil de 1%.

1. Les moyennes suivies d'une même lettre dans une même colonne ne diffèrent pas entre elles de manière significative d'après le test de Tukey.

During S₂, the mean number of hybrid moths emerged was 84.49% higher than for the pure breeds, with a mean number of 65.10 emerged moths.

The expected sex ratio for the emerged moths was 50% for hybrids and pure breeds during both seasons. The hybrids presented a larger number of emerged male and female moths both during S₁ and S₂ compared to the pure breeds (Table III). Female emergence was higher during both seasons due to the fact that the female oviposits and, since the male can mate with more than one female, the perpetuation of the species is guaranteed.

Some moths did not emerge, probably due to diseases that may have caused the death of the larva inside the cocoon itself during the spinning phase or immediately after, before the occurrence of metamorphosis. Another factor was the occurrence of double cocoons, which somehow reduced the number of resulting moths.

Number of eggs per moth:

There was a significant difference ($P < 0.05$) in number of eggs per moth between treatments and seasons. During S₁, H₁ and H₂ hybrids presented mean numbers of eggs of 576.96, a value 5.7% higher than the mean for their BC₁ and AJ₁ parents (545.64 eggs). The effect of heterosis was 1.63% for H₁ and 9.85% for H₂ compared to the parents (Table III).

The results were similar for S₂, with an effect of heterosis of 9.11% for H₁ (664.76 eggs/moth) and of 18.52% for H₂ (722.12 eggs/moth) compared to the parents, whose mean production was 609.28 eggs/moth.

Although a change in temperature occurred during S₂, ovipositing was not affected. The mean number of eggs/moth obtained during S₁ was 561.30, whereas the mean obtained during S₂ was 651.36 eggs/moth, a 16.05% increase in relation to S₁, showing that at a mean temperature of 24.2 °C (S₂) ovipositing was better than during S₁ when mean temperature was 26.1 °C.

CONCLUSIONS

On the basis of the present data, we conclude that, with a few exceptions, the hybrids were better than the pure breeds for most of the parameters analyzed both during S₁ and S₂, especially for those of economic importance for the producer such as number of formed cocoons. The hybrid BC₁ × AJ₁ was particularly outstanding for presenting the highest degree of heterosis during both seasons (12.34% for S₁ and 32.04% for S₂), proving to be more resistant to environmental changes.

With respect to the pure breeds, BC₁ (Chinese) was superior to AJ₁ (Japanese) in terms of parameters of economic interest such as number of surviving larvae in the last instar (S₂), number of formed cocoons (S₂) and shorter larval period (S₂), proving to be more resistant to environmental changes in temperature and relative humidity and better adapted during S₂.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are indebted to CNPq for a post-graduate fellowship and to FAPESP for financial support.

REFERENCES

- ABREU O.C. (1971) Preparo técnico de ovos do bicho-da-seda. 2^a ed. São Paul, Instituto de Zootecnia, 108 pp.
- OKINO I. (1982) Manual de sericultura. Bauru, 80 pp.
- PAOLIERI L. (1965) Estudos experimentais comparativos de raças de bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.). Campinas (Boletim Técnico de Sericultura, 45), 56 pp.
- PEREIRA J.C.C. (1983) Melhoramento genético dos animais domésticos. Belo Horizonte, 430 pp.
- TAKAHASHI R. (1992) Sericultura. FCAVJ-Jaboticabal, Apostila, 134 pp.

PERFORMANCES DE RACES PURES ET D'HYBRIDES DU VER A SOIE (*BOMBYX MORI* L.) AU PRINTEMPS ET A L'AUTOMNE

J.O. ARNAUT DE TOLEDO, R. TAKAHASHI & E.B. MALHEIROS

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP,
Rodovia Carlos Tonanni km 5, 14870-000 Jaboticabal, São Paulo, Brésil.

Une expérience a été réalisée à la section séricicole de la Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAVJ)-UNESP dans le but de déterminer la performance biologique (nombre de larves au début de chaque âge, poids larvaire à la fin du cinquième âge, nombre de cocons formés, nombre de papillons émergés, nombre de papillons mâles et femelles et nombre d'oeufs par papillon) de deux races pures, BC₁ (race chinoise) et AJ₁ (race japonaise) et d'hybrides issus de croisements de ces races, BC₁ × AJ₁ (H₁) et AJ₁ × BC₁ (H₂) au cours de deux saisons différentes : le printemps (S₁) et l'automne (S₂). Les hybrides H₁ et H₂ sont supérieurs aux races pures pour la plupart des paramètres analysés, en particulier le nombre de cocons formés, qui est significativement plus élevé ($P < 0,05$) avec un pourcentage moyen de cocons formés de 90,7 % au cours de S₁, et un degré d'hétérosis de 12,34 % (H₁) et de 9,43 % (H₂). Pour S₂, le nombre moyen de cocons formés est de 76,9 % et le degré d'hétérosis de 32,04 % (H₁) et de 27,98 % (H₂). Le nombre de cocons formés pour S₁ est supérieur de 26,79 % à celui obtenu pour S₂.

INTRODUCTION

La sélection de vers à soie (*Bombyx mori* L.), dont le produit principal est le fil de soie, est une activité économique très importante au Brésil, qui occupe la cinquième place mondiale pour la production de cocons frais, soit un total de 17 000 tonnes et une production de 2 000 tonnes de fil de soie.

La productivité, c'est-à-dire le nombre de cocons obtenus par gramme d'oeufs élevés, a augmenté de manière significative depuis quelques années.

Des études à l'échelle mondiale sur le ver à soie ont montré que l'augmentation de la production de soie dépend de deux conditions majeures : l'élevage rationnel du ver à soie et l'utilisation de races et de cocons ayant une capacité combinatoire améliorée (Paolieri, 1965), c'est-à-dire la capacité de transmettre les caractères désirés de chaque race initiale (Abreu, 1971).

Pour obtenir des espèces performantes, plusieurs études ont été réalisées sur le croisement de différentes races et la sélection de celles dont le potentiel a été vérifié au niveau expérimental (Okino, 1989). Les hybrides sont aujourd'hui utilisés à l'échelle commerciale afin d'exploiter l'hétérosis, en particulier entre les races japonaises et les races chinoises.

Cette étude a pour objet de déterminer la performance biologique (nombre de larves au début de chaque âge, poids larvaire à la fin du 5e âge, nombre de cocons formés, nombre de papillons émergés, nombre de papillons mâles et femelles et nombre d'oeufs par papillon) de deux races pures et de deux hybrides de ver à soie.

MATERIELS ET METHODES

L'expérience a été réalisée à la section séricicole du Département d'élevage des animaux non ruminants, Faculté des sciences agricoles et vétérinaires de Jaboticabal, SP (FCAVJ-UNESP).

Deux races pures, BC₁ (race chinoise) et AJ₁ (race japonaise), et deux hybrides, BC₁ × AJ₁ (H₁) et AJ₁ × BC₁ (H₂), ont été utilisés à partir du premier jour du premier âge afin de déterminer la performance biologique des vers à soie dans une étude réalisée avec 5 réplicats au cours de deux saisons différentes : le printemps (S₁) et l'automne (S₂). Nous avons utilisé 210 larves par lot par race pure et par hybride pour S₁ et 200 larves par lot par race pure et par hybride pour S₂.

Les larves ont été nourries tous les jours à 7h30, 10h30, 13h30, 16h30 et 19h30 et la température et l'humidité relative ont été relevées à chaque nourrissage.

Les données moyennes sont présentées dans le tableau I et font apparaître une température moyenne de 26,1 °C et une humidité relative moyenne de 79,2 % pour S₁ ; pour S₂, ces valeurs sont respectivement de 24,2 °C et de 86,4 %.

Pour le filage des cocons, nous avons utilisé des supports en plastique pour chaque lot et pour la ponte des oeufs des cônes en plastique. Le nombre moyen d'oeufs a été déterminé sur la base de 5 pontes prélevées au hasard dans chaque lot.

Les données ont été analysées statistiquement par le logiciel SAS. Le test Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes et le niveau de signification a été fixé à 5 %. Une analyse combinée a été réalisée pour déterminer l'effet de la saison sur tous les paramètres considérés.

RESULTATS ET DISCUSSION

Nombre de larves au début de chaque âge :

Aucune différence significative ($P > 0,05$) du nombre de larves au début de chaque âge n'a été observée entre les traitements pour ce qui concerne les larves ayant atteint le deuxième et le troisième âge. De plus, aucun effet d'interaction ($P > 0,05$) n'a été observé pour le troisième âge. Cependant, on relève une différence dans l'effet de l'interaction pour ce qui concerne les larves ayant atteint les 2e, 4e et 5e âges ainsi que dans l'effet de la saison ($P > 0,05$) (Tableau II).

Pour S₁, les hybrides H₁ et H₂ présentent une tendance à une meilleure adaptation, avec une moyenne de larves atteignant la fin du 5e âge de 93,57 %. Pour les races pures, ce taux moyen de survie est de 90,09 %.

Pour S₂, les hybrides et la race pure BC₁ présentent un taux de survie larvaire supérieur de 26,38 % à celui de AJ₁ au début du 5e âge.

Poids larvaire à la fin du 5e âge :

On constate une différence significative ($P < 0,05$) entre les traitements, entre les saisons et au niveau de l'interaction entre ces deux facteurs (Tableau II).

Pour S₁, les larves hybrides pèsent moins que les larves de race pure. Ceci est probablement dû au fait qu'un plus grand nombre de larves de race pure sont mortes au début du 5e âge (Tableau II), laissant davantage d'espace aux larves survivantes dans les litières et réduisant la compétition pour la nourriture.

Pour S₂, le poids larvaire moyen est similaire pour les deux hybrides et est supérieur d'environ 2,3 % à celui des races pures. Ces résultats sont également dus au fait qu'un plus grand nombre de larves sont mortes pendant le dernier âge et à l'effet de la température à cette époque de l'année, avec une chute soudaine de la température ambiante pendant le quatrième âge (Tableau I). Ceci a entraîné une diminution de l'ingestion de nourriture par les larves et, de ce fait, du poids larvaire à la fin du 5e âge.

Nombre de cocons formés :

On observe un effet significatif du traitement (T) et de la saison (S) ainsi que de l'interaction T × S, ce qui indique que les effets sur les hybrides et sur les races pures varient dans une même saison (Tableau III).

Au cours de S₁, 91,90 % des larves H₁ ont filé leur cocon, contre 89,52 % chez H₂, soit une différence de 3,38 %. Pour ce qui concerne les races pures, 85,24 % des larves BC₁ et 78,38 % des larves AJ₁ ont filé leur cocon.

D'après Pereira (1983), le degré d'hétérosis est évalué en fonction de la supériorité de la moyenne obtenue à la génération F₁ par rapport à la moyenne obtenue à la génération parentale. Dans cette étude, la supériorité par rapport aux parents est de 12,34 % pour H₁ et de 9,43 % pour H₂, ce qui justifie l'utilisation, à l'échelle commerciale, de ces hybrides dans les filatures.

Pour S₂, 78,10 % des larves H₁ et 75,70 % des larves H₂ ont filé leur cocon ; chez les races pures, 73,80 % des larves BC₁ et 44,5 % des larves AJ₁ ont filé leur cocons, AJ₁ étant la race la plus sensible aux variations de température.

Pour ce qui concerne l'hétérosis par rapport aux parents, H₁ est supérieur de 32,04 % et H₂ de 27,98 %.

Dans l'ensemble, le nombre de cocons formés au cours de S₁ est supérieur de 33,15 % à celui obtenu pour S₂. Cette diminution est due à une chute de température au cours de S₂ plutôt qu'à des facteurs génétiques puisqu'on a utilisé les mêmes races pures et les mêmes hybrides ; ceci montre l'importance du contrôle de la température pendant le stade du filage.

Nombre de papillons émergés :

On observe une différence significative ($P < 0,05$) entre les traitements et entre les saisons mais pas pour leur interaction ($P > 0,05$) (Tableau III). Le nombre moyen de papillons hybrides est de 168,68, c'est-à-dire un taux supérieur de 82,06 % à celui obtenu pour les races pures qui donnent un nombre moyen de 89,90 papillons émergés pour S₁.

Pour S₂, le nombre moyen de papillons hybrides émergés est supérieur de 84,49 % à celui obtenu pour les races pures, avec un nombre moyen de 65,10 papillons émergés.

Le *sex ratio* attendu pour les papillons émergés est de 50 % pour les hybrides et les races pures au cours des deux saisons. Les hybrides présentent un nombre plus important de papillons mâles et femelles émergés pour S₁ et S₂ que les races pures (Tableau III). L'émergence des femelles est plus élevée aux deux saisons car c'est la femelle qui pond et le mâle peut s'accoupler avec plus d'une femelle, assurant ainsi la conservation de l'espèce.

Certains des papillons n'ont pas émergés, probablement en raison de maladies pouvant avoir provoqué la mort de la larve à l'intérieur du cocon pendant le stade du filage ou immédiatement après, avant la métamorphose. Un autre facteur est la présence de cocons doubles qui réduit plus ou moins le nombre de papillons.

Nombre d'oeufs par papillons :

On observe une différence significative ($P < 0,05$) du nombre d'oeufs par papillon entre les traitements et les saisons. Pour S₁, les hybrides H₁ et H₂ présentent un nombre moyen de 576,96 oeufs, soit une valeur supérieure de 5,7 % à la moyenne obtenue pour les parents BC₁ et AJ₁ (545,64 oeufs). L'effet de l'hétérosis par rapport aux parents est de 1,63 % pour H₁ et de 9,85 % pour H₂ (Tableau III).

Les résultats sont identiques pour S₂, avec un effet de l'hétérosis de 9,11 % pour H₁ (664,76 oeufs/papillon) et de 18,52 % pour H₂ (722,12 oeufs/papillon) par rapport aux parents dont la production moyenne est de 609,28 oeufs/papillons.

Bien qu'on ait observé une variation de température au cours de S₂, celle-ci n'a pas affecté l'oviposition. Le nombre moyen d'oeufs/papillon obtenu pour S₁ est de 561,30, tandis que la moyenne obtenue pour S₂ est de 651,36 oeuf/papillons, soit une augmentation de 16,05 % par rapport à S₁ ; ceci montre qu'à la température moyenne de 24,2 °C (S₂), l'oviposition est meilleure qu'à la saison S₁ lorsque la température moyenne est de 26,1 °C.

CONCLUSIONS

Sur la base des données présentées ici, nous pouvons conclure que les hybrides, à quelques exceptions près, sont supérieurs à leurs parents pour la plupart des paramètres considérés aux saisons S₁ et S₂, en particulier les paramètres d'intérêt économique pour le producteur comme le nombre de cocons formés. L'hybride BC₁ × AJ₁ se montre particulièrement performant car il présente le degré maximal d'hétérosis pour les deux saisons (12,34 % pour S₁ et 32,04 % pour S₂) et s'avère donc plus résistant aux variations environnementales.

Chez les races pures, BC₁ (race chinoise) est supérieure à AJ₁ (race japonaise) pour ce qui concerne les paramètres d'intérêt économique comme le nombre de larves survivantes au dernier âge (S₂), le nombre de cocons formés (S₂) et la période larvaire plus courte (S₂) et s'avère donc plus résistante aux variations environnementales de la température et de l'humidité relative et mieux adaptée à l'élevage à la saison S₂.

HETEROSIS ANALYSIS ON SILK PRODUCTIVITY OF THREE-WAY CROSSES IN *BOMBYX MORI* L.

S. CHATTOPADHYAY, S.K. DAS, G.C. ROY, S.K. SEN & S.S. SINHA

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, India.

Silk productivity (cg/day), a breeding index, was developed in relation to the quantity of silk produced by a worm and the fifth instar larval duration. Investigations were undertaken with an object to combine the best trait, i.e., high egg laying capacity, of a white indigenous multivoltine race, Sarupat, with high temperature and humidity tolerant multivoltine F_1 hybrids of *Bombyx mori* L. for rearing under tropical conditions. F_1 hybrids were used as parents because under the hot and humid seasons of West Bengal it is very difficult to raise seed crop of inbred improved lines like G and OS-616. The results are discussed in terms of heterosis in respect of silk productivity over mid- and better parental values in 4 three-way crosses. A significant positive heterotic effect was observed in one of the 4 three-way crosses, i.e., $S \times (N \times G)$, during the unfavourable cocoon crop season of West Bengal.

Keywords: *Bombyx mori* L., heterosis, productivity, three-way cross.

INTRODUCTION

In order to boost up silk production, utilization of hybrid vigour is essential and it is established that silkworm hybrids are superior to their parents. In India, the advantages of using three-way crosses of the silkworm were demonstrated by Krishnaswami (1987), Subba Rao *et al.* (1989) and Das *et al.* (1994). In our present study, the three-way crosses were produced by utilizing stress-tolerant single crosses like $N \times G$, $G \times N$, $N \times OS-616$, and $OS-616 \times N$ rather than the less tolerant inbred lines as male parents. The female parent, Sarupat, is stress-tolerant and with a high egg-laying capacity. Under the hot and humid climatic conditions of West Bengal, such a technology is useful. Although silk productivity is an important breeding index in evaluating silkworm breeds (Iyengar *et al.*, 1983), only very few information is available in the literature on the silkworm concerning this index (Udupu and Gowda, 1988; Singh *et al.*, 1990).

The present experiment was undertaken to determine the extent of heterotic expression with respect to silk productivity in three-way crosses of multivoltine silkworms.

MATERIALS AND METHODS

The female parents of the white indigenous multivoltine race, Sarupat, and the male parents of 4 multivoltine hybrids, i.e., $N \times G$, $G \times N$, $N \times OS-616$ and $OS-616 \times N$, were chosen for this experiment and 4 three-way crosses, i.e., $S \times (N \times G)$, $S \times (G \times N)$, $S \times (N \times OS-616)$ and $S \times (OS-616 \times N)$, were reared during the favourable ('Falgooni': January-February) and unfavourable ('Jaistha': May-June) crop seasons of West Bengal. Three replications each with 300 larvae were kept for each of these crosses. The rearings of all the hybrids were conducted following the rearing technique suggested by Krishnaswami (1978, 1979) and productivity was calculated using the following formula (Udupu and Gowda, 1988):

$$\text{Silk productivity per day (cg/day)} = \frac{\text{Cocoon shell weight}}{\text{5th instar duration (days)}}$$

Table I. Mean values of fifth instar duration (days), cocoon shell weight (cg), and productivity (cg/day) of different three-way crosses and their parents in two seasons.

Tableau I. Valeurs moyennes de la durée du cinquième âge (jours), du poids de la coque (cg) et de la productivité (cg/jour) de différents croisements trois-voies et de leurs parents obtenues pour deux saisons.

Crosses Croisements	Falgooni (Jan.-Feb.) Falgooni (jan.-fév.)			Jaistha (May-June) Jaistha (mai-juin)		
	CSW	5th ID	P	CSW	5th ID	P
S × (N × G)	18.6	8.5	2.193	14.4	7.0	2.057
S × (G × N)	19.1	7.5	2.560	12.6	7.5	1.677
S × (N × OS-616)	17.6	7.5	2.340	12.9	7.5	1.733
S × (OS-616 × N)	17.9	8.5	2.117	15.6	7.0	2.227
S (FP)	14.6	8.0	1.823	6.6	8.5	0.780
N × G (MP)	19.7	7.5	2.633	9.36	7.0	1.337
G × N (MP)	17.5	7.5	2.337	10.1	7.0	1.437
N × OS-616 (MP)	19.9	7.5	2.657	13.5	7.0	1.923
OS-616 × N (MP)	17.4	8.0	2.177	16.7	7.5	2.227

5th ID: Fifth instar duration / *Durée du cinquième âge*. **CSW:** Cocoon shell weight / *Poids de la coque*. **P:** Productivity / *Productivité*. **FP:** Female parent / *Parent femelle*. **MP:** Male parent / *Parent mâle*.

Table II. Heterosis values in productivity of three-way crosses over mid- and better parent values (MPV and BPV) in two seasons.

Tableau II. Valeurs de l'hétérosis pour la productivité chez des croisements trois-voies par rapport aux valeurs des parents moyens (MPV) et des meilleurs parents (BPV) obtenues pour deux saisons.

Crosses		Falgooni (Jan.-Feb.)	Jaistha (May-June)
Croisements		Falgooni (jan.-fév.)	Jaistha (mai-juin)
S × (N × G)	MPV	-1.670	95.330*
	BPV	16.700	53.870*
S × (G × N)	MPV	23.080*	51.580*
	BPV	9.560	16.710
S × (N × OS-616)	MPV	4.540	31.200
	BPV	-11.810*	-7.800
S × (OS-616 × N)	MPV	7.450	48.120*
	BPV	0.000	0.000

* Significant at the 5% level / *Significatif au seuil de 5 %*.

RESULTS AND DISCUSSION

The mean performance data in respect of the fifth instar larval duration, cocoon shell weight and silk productivity for the 4 three-way crosses during the favourable ('Falgooni') and unfavourable ('Jaistha') crop seasons are presented in Table I, and the heterotic effects over mid-parent (MPV) and better parent (BPV) values in both seasons are provided in Table II.

Silk productivity among the 4 three-way crosses ranged from 2.117-2.560 in 'Falgooni' and 1.677-2.227 in 'Jaistha' crop seasons. The mean values in respect of silk productivity in the favourable season ('Falgooni') indicated that parents approached the values of hybrids; this was due to the favourable environment for all types of mulberry silkworm rearing, as observed by Sengupta *et al.* (1974) and Das *et al.* (1994). The maximum productivity was observed in $S \times (OS-616 \times N)$ (2.227), followed by $S \times (N \times G)$ (2.057). Although no appreciable heterotic effect was observed in respect of productivity in any of the crosses in either season, the highest and positive significant heterotic effect in the unfavourable (hot and humid) season of West Bengal was observed in $S \times (N \times G)$ over MPV (95.33) and BPV (53.87). Thus, the analysis of mean and heterotic values reveals that $S \times (N \times G)$ hybrid may be useful for production of commercial cocoon crop in the unfavourable (especially 'Jaistha') season of West Bengal instead of a single cross, $(N \times G)$ or $(G \times N)$.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Mr B.P. Nair, SRO, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore (West Bengal), for carrying out the statistical analysis.

REFERENCES

- DAS S.K., PATTNAIK S., GHOSH B., SINGH T., NAIR B.P., SEN S.K., SUBBA RAO G. (1994) Heterosis analysis in some three-way crosses of *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 34(1), 51-61.
- IYENGAR M.N.S., JOLLY M.S., DUTTA R.K., SUBRAMANIAN R.K. (1983) Relative silk productivity of different silkworm breeds and its use as a breeding index. National Seminar on Silk Research and Development, Bangalore, Abst. 12.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New technology of silkworm rearing. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, Bull. 2, 1-10.
- KRISHNASWAMI S. (1979) Improved method of rearing young-aged (chawki) silkworm. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, Bull. 3, 1-23.
- KRISHNASWAMI S. (1987) A new concept of a three-way cross in place of conventional Mysore $\times$ bivoltine hybrids. *Indian Silk*, May, 21-26.
- SENGUPTA K., YUSUF M.R., GROVER S.P. (1974) Hybrid vigour and genetic analysis of quantitative traits in silkworm. *Indian J. Genet.*, 34(4), 249-256.
- SINGH T.N., SINHA DEO S.N., DAS M. (1990) Heterosis in silk productivity as a breeding index in *Bombyx mori* L. *Silkworm Information Bulletin*, 3(1), 1-3.
- SUBBA RAO G., DAS S.K., GHOSH B. (1989) Heterosis effect on some new silkworm hybrids evolved by three-way crosses. *Perspective in Cytology and Genetics*, 6, 373-378.
- UDUPU S.M., GOWDA B.L.V. (1988) Heterotic expression in silk productivity of different crosses of silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 28(3), 395-399.

ANALYSE DE L'HETEROSIS POUR LA PRODUCTIVITE DE SOIE CHEZ DES CROISEMENTS TROIS VOIES DE *BOMBYX MORI* L.

S. CHATTOPADHYAY, S.K. DAS, G.C. ROY, S.K. SEN & S.S. SINHA

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, Inde.

*On a élaboré un indice de sélection, la productivité de soie (cgljour), basé sur la quantité de soie produite par une larve et la durée du cinquième âge. Ces expériences ont été réalisées afin de combiner le caractère le plus performant, c'est-à-dire la capacité maximale de ponte, d'une race polyvoltine indigène blanche, Sarupat, avec la tolérance aux conditions élevées de température et d'humidité d'hybrides F_1 polyvoltins de *Bombyx mori* pour l'élevage en milieu tropical. Les hybrides F_1 ont été choisis comme parents car il est très difficile, au cours des saisons chaudes et humides du Bengale occidental, d'obtenir des cocons destinés au grainage avec des lignées consanguines améliorées telles que G et OS-616. Les résultats sont discutés en termes d'hétérosis pour la productivité de soie par rapport aux valeurs des parents moyens et des meilleurs parents chez quatre croisements trois voies. On observe un effet hétérotique positif et significatif chez l'un de ces quatre croisements, $S \times (N \times G)$, durant la saison défavorable à la récolte des cocons dans le Bengale occidental.*

INTRODUCTION

Si l'on veut relancer la production de soie, l'utilisation de la vigueur hybride est indispensable car il est établi que les hybrides de ver à soie sont supérieurs à leurs parents. En Inde, les avantages liés à l'utilisation de croisements trois voies du ver à soie ont été mis en évidence par Krishnaswami (1987), Subba Rao et coll. (1989) et Das et coll. (1994). Dans cette étude, les croisements trois voies ont été isolés en utilisant comme parents mâles des croisements simples tolérants aux stress tels que $N \times G$, $G \times N$, $N \times OS-616$ et $OS-616 \times N$ plutôt que des lignées consanguines moins tolérantes. Le parent femelle, Sarupat, est tolérant aux stress et présente une capacité de ponte élevée. Dans les conditions climatiques chaudes et humides du Bengale occidental, ce type de technologie est utile. Bien que la productivité de soie soit un critère de sélection important pour l'estimation des races de ver à soie (Iyengar et coll., 1983), les publications sur le ver à soie donnent très peu d'informations sur cet indice (Udupu et Gowda, 1988 ; Singh et coll., 1990).

L'expérience décrite ici a été réalisée afin de déterminer l'étendue de l'expression hétérotique pour ce qui concerne la productivité de soie chez des croisements trois voies de vers à soie polyvoltins.

MATERIELS ET METHODES

Les parents femelles d'une race polyvoltine indigène, Sarupat, les parents mâles de quatre hybrides polyvoltins, $N \times G$, $G \times N$, $N \times OS-616$ et $OS-616 \times N$ ont été choisis pour cette expérience et quatre croisements trois voies, $S \times (N \times G)$, $S \times (G \times N)$, $S \times (N \times OS-616)$ et $S \times (OS-616 \times N)$, ont été élevés au cours des saisons favorable ("Falgooni" : janvier-février) et défavorable ("Jaistha" : mai-juin) du Bengale occidental avec trois réplicats de 300 larves pour chaque croisement. L'élevage des

hybrides a été effectué suivant la technique standard proposée par Krishnaswami (1978, 1979) ; la productivité a été calculée sur la base de la formule suivante (Udpu et Gowda, 1988) :

$$\text{Production journalière de soie (CG/jour)} = \frac{\text{Poids de la coque}}{\text{Durée du 5e âge (jours)}}$$

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données concernant les performances moyennes pour la durée du cinquième âge, le poids de la coque et la productivité de soie chez les quatre croisements trois voies pendant les saisons favorable ("Falgooni") et défavorable ("Jaistha") sont présentées dans le tableau I ; les effets hétérotiques par rapport aux valeurs des parents moyens et des meilleurs parents pour ces deux saisons sont donnés dans le tableau II.

La productivité de soie des quatre croisements trois voies varie de 2,117 à 2,560 à la saison favorable et de 1,677 à 2,227 à la saison défavorable. Les valeurs moyennes obtenues pour la productivité de soie à la saison favorable indiquent que les valeurs parentales s'approchent de celles des hybrides ; ceci est dû à l'environnement favorable pour tous les types d'élevage de ver à soie, comme l'ont observé Sengupta et coll. (1974) et Das et coll. (1994). La productivité est maximale chez $S \times (OS-616 \times N)$ (2,227), devant $S \times (N \times G)$ (2,057). Bien qu'aucun effet hétérotique sensible n'ait été observé pour ce qui concerne la productivité, quel que soit le croisement ou la saison considérés, l'effet hétérotique maximal positif et significatif a été obtenu à la saison défavorable (humide et chaude) du Bengale occidental pour $S \times (N \times G)$ par rapport aux valeurs du parent moyen (95,33) et du meilleur parent (53,87). L'analyse des valeurs moyennes et hétérotiques montre donc que l'hybride $S \times (N \times G)$ peut être utilisé pour la production commerciale de cocons à la saison défavorable (en particulier "Jaistha") du Bengale occidental à la place d'un croisement simple comme $N \times G$ ou $G \times N$.

GENOTYPE-MUTAGEN INTERACTION AS SHOWN BY THE FILAMENT LENGTH OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L. (LEPIDOPTERA: BOMBYCIDAE), TREATED AS EGGS WITH N-NITROSO-N-ETHYLUREA

A.M. SALEH REZA, M. HASAN* & A.R. KHAN

Department of Zoology, Rajshahi University, Rajshahi 6205, Bangladesh.

The effect of the interaction between the chemical mutagen, N-nitroso-N-ethylurea, on the silk filament length of Bombyx mori L. treated as eggs and the genotype was studied. Both linear and non-linear responses were detected for this interaction. The estimates of dose-effective index revealed that the most effective dose was 25 mM and the worst, 30 mM. The genotypes were heterogeneous in respect of their stability. The mean performance, response and stability varied among themselves.

Keywords: *Bombyx mori* L., genotype, mutagen, silk filament.

INTRODUCTION

A knowledge of the nature and magnitude of genotypical interactions has become essential in helping the animal breeders to find out the genotypical responses to different treatments. The importance of these interactions has widely been accepted and in recent years methods have been developed to provide reliable estimates. A number of researchers have used the idea of breaking down interaction into several parts through regression techniques (Finlay and Wilkinson, 1963; Eberhart and Russell, 1966; Freeman and Perkins, 1971).

Several chemical mutagens have already been used in the hybridization of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L., by several workers with a view to obtaining a vigour-stable variety (Murakami, 1975; Murota and Murakami, 1977; Datta *et al.*, 1978; Segal and Owens, 1983; Pai *et al.*, 1985). The studies of Murakami (1975) and Tazima and Onimara (1978) have revealed that the induction of mono-functional alkylating agents in silkworms can be brought in its great variety. Gaur and Mehrotra (1980) and Pai *et al.* (1985) have reported the effects of *Apron 35SD* and ethyl methane-sulfonate on the mulberry silkworm and wild tasar silkworm, respectively. Murakami (1985) has also found an induced mutation in *B. mori* with the treatment of alfatoxin B1.

There are few data on the genotype-mutagenic interaction in *B. mori* in respect to quantitative traits like silk filament length. So, the present investigation was designed with 16 genotypes of *B. mori* induced as eggs of four varieties by the chemical mutagen, N-nitroso-N-ethylurea (NEU), to find out the more stable genotype or genotypes in respect of the filament length, which is a very important economic character.

MATERIALS AND METHODS

The experimental eggs of four varieties of *B. mori* L., i.e., *Nistari-L*, *Nistari-G*, *RB-112* and *BSRI-801*, were originally received from the Germplasm Bank, Bangladesh Sericultural Research and Training Institute, Rajshahi, and the mutagen, NEU, was induced on 1-day-old silkworm eggs. Three

* To whom correspondence should be addressed.

experimental doses, i.e., 20, 25 and 30 mM (millimol), were prepared by adding necessary amounts of NEU in distilled water which were placed separately in an air-tight desiccator and was left for 12 hr at 25 °C. Four replications were used in each untreated (control) and NEU-treated lines for estimation of induction in the selective crosses. *B. mori* larvae hatching out from the treated and untreated eggs were reared following the methods of Krishnaswami (1978). The mature larvae were transferred to bamboo-made mountages for cocoon spinning. The cocoons were harvested and reeled for silk filament by a reeling machine.

The experiment was conducted through parental to F1 generations which were continued for twelve selective crosses. The genotypical approach was partitioned into linear and non-linear components through the regression method (Eberhart and Russell, 1966). Responses were computed following Finlay and Wilkinson (1963) and the stability parameter was calculated as the mean square deviation from the linear equation (Eberhart and Russell, 1966). Appropriate analyses of variance were computed following the Kwickstat Programme.

The experiments were performed at the Silkworm Research Laboratory, Department of Zoology, Rajshahi University, at 25 ± 2 °C.

RESULTS AND DISCUSSION

Results show that the genotypes interacted significantly with the mutagenic doses (Table I), which supports the findings of Murakami (1985).

The estimates of dose indices (Fig. 1) reveal that the most favourable dose is 25 mM and the worst is 30 mM for silkworm eggs to be induced by NEU for obtaining more hybrid vigour as well as more silk filament.

Table I. Pooled analysis of variance due to stability parameters for the filament length in *B. mori* treated as eggs with NEU.

Tableau I. Analyse de variance des paramètres de stabilité pour la longueur de la bave chez *B. mori* traité au stade oeuf avec du NEU.

Source	DF	SS	MS	VR ₁		
Genotype / <i>Génotype</i>	15	735072.37	49004.83	1312.15***		
Dose	2	17377.40	8688.70	32.65***		
Replication in dose / <i>Dose-répliat</i>	6	2699.75	449.96	13.39***		
Genotype × dose / <i>Génotype × dose</i>	30	139632.37	4654.41	124.63***		
Error / <i>Ecart</i>	90	3361.21	37.35			
					VR ₂	VR ₃
Dose+ (genotype × dose) / <i>Dose+ (génotype × dose)</i>	32	52348.93	1635.90	31.51***	0.892	
Dose (linear) / <i>Dose (linéaire)</i>	1	5792.80	5792.80	111.59***	3.16	
Genotype × dose (linear) / <i>Génotype × dose (linéaire)</i>	15	17220.24	1148.02	22.12***	0.626	
Pooled dev. / <i>Déviatiôn cumulée</i>	16	29335.90	1833.49	35.32***		
Pooled error / <i>Ecart cumulé</i>	96	4983.52	51.912			

*** P < 0.001

DF: Degrees of freedom / *Degrés de liberté*.

SS: Sum of squares / *Somme des carrés*.

MS: Mean sum of squares / *Somme moyenne des carrés*.

VR₁: Variance ratio / *Taux de variance*.

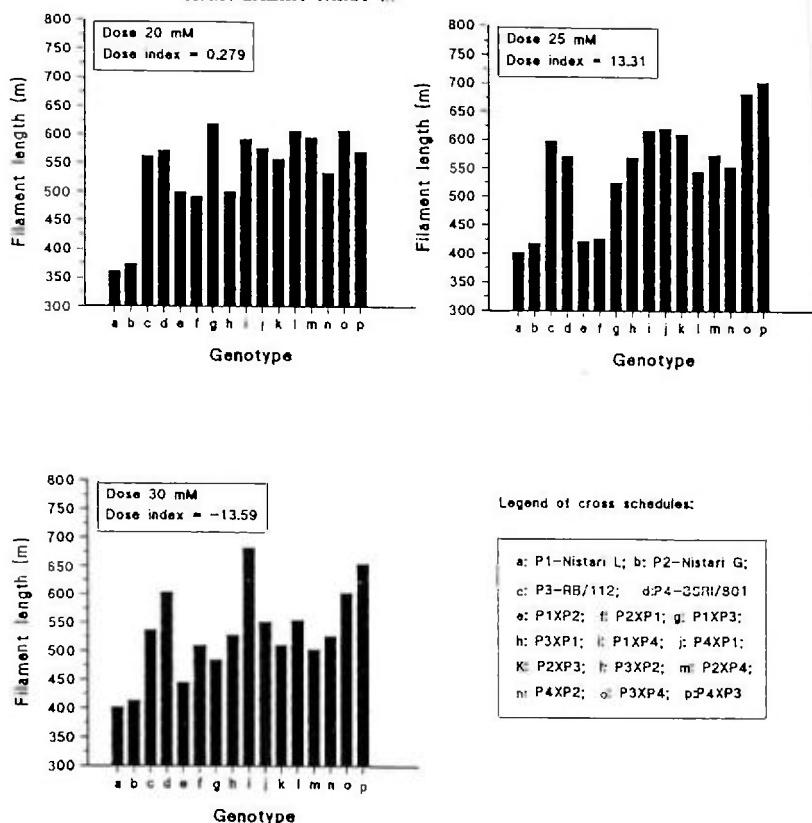


Fig. 1: Mean performance and dose indices of 16 genotypes for the filament length of *B. mori* treated as eggs with NEU.

*Fig. 1 : Performances moyennes de 16 génotypes de *B. mori* pour la longueur de la bave en fonction des doses de traitement au stade oeuf avec du NEU.*

The estimate of a genotypical stability can be measured by considering the linear regression 'b' (Finlay and Wilkinson, 1963) or by both the linear 'b' and the non-linear ' S^2_d ' components (Eberhart and Russell, 1966). In addition, the 'b' values may simply be regarded as a response whereas the ' S^2_d ' values are the most suitable measures for genotypical stability (Reich and Atkins, 1970; Paroda and Hays, 1971; Stroike and Johnson, 1972; Langer *et al.*, 1979). However, to judge the stability of a genotype, the present result was computed as the mean performance ($\bar{x}$), response (b) and deviation from regression ' S^2_d ' (Table II).

A desired genotype should be with a high mean performance, a unit regression coefficient and ' S^2_d ' value as small as possible. But most of the genotypes did not follow these three criteria in this investigation. However, many different combinations of stability parameter are possible which need a somewhat different interpretation. A variety having a high mean performance, high 'b' value and low ' S^2_d ' value could be considered as a particularly well-suited genotype to any specific environment (Stroike and Johnson, 1972).

The genotypes, *Nistari-L* $\times$ *BSRI-801*, *BSRI-801* $\times$ *Nistari-L*, *Nistari-G* $\times$ *RB-112* and *BSRI-801* $\times$ *Nistari-G*, indicated a highly predictable good performance for the silk filament length by treatment with NEU. The genotype having comparatively high mean performances with moderately low 'b' and ' S^2_d ' values will also be considered as a desirable genotype. The genotype, *BSRI-801* $\times$ *RB-112*, appeared to be suitable in this regard. In addition, genotypes that have low values for $\bar{x}$, 'b' and ' S^2_d ' will be lower yielders at all treatments.

The stability parameters as studied in the present investigation showed that the genotype-mutagen interaction plays a significant role in determining quantitative traits like the filament length in *B. mori*.

The study also revealed that the desirable dose of NEU, i.e., 25 mM, may prove very much promising in exploiting the high-yielding genotypes of silkworms.

Table II. Mean performances ($\bar{x}$) over the three doses, regression coefficient (b) with standard error (S_b) and stability parameters (S_d^2) of genotypes for filament length in *B. mori* treated as eggs with NEU.

Tableau II. Performances moyennes ($\bar{x}$) pour les trois doses, coefficient de régression (b) avec l'écart type (S_b) et paramètres de stabilité (S_d^2) des génotypes pour la longueur de la bave chez *B. mori* traité au stade oeuf avec du NEU.

Genotype / Génotype	($\bar{x}$)	(b)	(S_b)	(S_d^2)
P1	388.56	-0.02	1.72	1034.76***
P2	401.85	0.16	1.77	1100.59***
P3	566.28	2.25***	0.06	-19.30
P4	582.99	-1.21	0.38	95.20
P1 × P2	456.06	-0.79	2.87	2947.34***
P2 × P1	477.17	-3.05	1.08	380.79**
P1 × P3	543.30	1.58	4.92	8717.56***
P3 × P1	533.23	1.48	2.09	1534.82***
P1 × P4	597.84	1.29**	0.34	0.467
P4 × P1	584.02	2.57***	0.45	32.89
P2 × P3	560.37	3.73***	0.18	-29.47
P3 × P2	569.07	-0.36	2.49	2209.54***
P2 × P4	558.26	2.69	2.45	2136.28***
P4 × P2	538.63	0.95**	0.25	-18.84
P3 × P4	632.37	2.98*	1.49	766.01***
P4 × P3	643.22	1.75	1.49	7782.56***

P1: Nistari-L; P2: Nistari-G; P3: RB-112; P4: BSRI-801

* P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Chairman, Department of Zoology, Rajshahi University, Rajshahi, for providing the necessary laboratory facilities and also the Chairman, Bangladesh Sericultural Research and Training Institute, Rajshahi, for kindly supplying the experimental silkworms eggs.

REFERENCES

DATTA R.K., SENGUPTA K., DAS S.K. (1978) Induction of dominant lethals with ethyl methane sulfonate in germ cells of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. Mutat. Res., 56, 299-304.

- EBERHART S.A., RUSSELL W.A. (1966) Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.*, 6, 36-40.
- FINLAY K.W., WILKINSON G.N., (1963) The analysis of adaptation in plant breeding programme. *Aust. J. Agri. Res.*, 14, 742-754.
- FREEMAN G.H., PERKINS J.M. (1971) Environmental and genotype-environment components of variability. VIII. Relations between genotypes grown in different environments and measures of these environments. *Heredity*, 27, 15-23.
- GAUR J.P., MEHROTRA P.N. (1986) Effects of various chemicals on germ cells of *Antheraea mylitta* Drury (Lepidoptera) the wild tasar silkworm. *Sericologia*, 26(3), 275-280.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New Technology of Silkworm Rearing. Bull. No. 2, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India.
- LANGER S., FREY K.J., BAILEY T. (1979) Association among productivity, production response and stability index in oat varieties. *Euphytica*, 28, 17-24.
- MURAKAMI A. (1975) Mutagenicity of diethyl sulphate in spermatozoa of the silkworm. I: Delayed mutagenic effect. *Ann. Rep. Nat. Genet.*, 25, 42.
- MURAKAMI A. (1985) A new mutant at the PE+ locus, black-eyed light yellowish-brown egg in germ cells of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Sericult. Sci. Japan*, 46, 205-212.
- MUROTA T., MURAKAMI A. (1977) Inductions of dominant lethal mutations by alkylating agents in germ cells of the silkworm, *Bombyx mori*. *Mutat. Res.*, 38, 343-344.
- PAI I.K., HEGDE S.N., KRISHNAMURTHY N.B. (1985) Dominant lethals induced by Apron 35 SD in silkworm, *Bombyx mori* L. *Sericologia*, 25(3), 343-345.
- PARODA R.S., HAYES J.D. (1971) An investigation of genotype-environment interaction for rate of ear emergence in spring barley. *Heredity*, 26, 156-175.
- REICH V.H., ATKINS R.E. (1970) Yield stability of four population types of grain sorghum, *Sorghum bicolor* (L) Moench, in different environments. *Crop Sci.*, 10, 511-517.
- SEGA G.A., OWENS J.G. (1983) Methylation of DNA and protamine by methylsulfonate in the germ cells of male mice. *Mutat. Res.*, 111, 227-244.
- STROIKE J.E., JOHNSON V.A. (1972) Winter wheat cultivar performance in an international array of environments. *Nebr. Res. Bull.*, 9, 251-255.
- TAZIMA Y., ONIMARA K. (1968) Mutagenic action of mitomycin-C and EMS on premeiotic germ cells of the male silkworm. *Ann. Rep. Inst. Genet.*, 19, 62-63.

EFFET DE L'INTERACTION GENOTYPE-MUTAGENE SUR LA LONGUEUR DE LA BAVE CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI* L. (LEPIDOPTERA : BOMBYCIDAE) TRAITE AU STADE OEUF AVEC DU N-NITROSO-N-ETHYLUREE

A.M. SALEH REZA, M. HASAN & A.R. KHAN

Department of Zoology, Rajshahi University, Rajshahi 6205, Bangladesh.

On a étudié l'effet de l'interaction entre le mutagène chimique N-nitroso-N-éthylurée et le génotype sur la longueur de la bave chez Bombyx mori L. traité au stade oeuf. Des réactions linéaires et non linéaires ont été détectées pour cette interaction. Les estimations de l'indice de dose efficace révèlent que la dose la plus efficace est de 25 mM et la moins efficace de 30 mM. Les génotypes sont hétérogènes sur le plan de la stabilité. La performance, la réaction et la stabilité moyennes sont variables.

INTRODUCTION

La connaissance de la nature et de l'amplitude des interactions génotypiques est devenue indispensable aux éleveurs pour déterminer les réactions génotypiques à différents traitements. L'importance de ces interactions est maintenant reconnue et, depuis quelques années, on a développé des méthodes permettant d'obtenir des estimations fiables. Certains chercheurs se sont servis de l'idée de séparer l'interaction en plusieurs étapes en utilisant des méthodes de régression (Finlay et Wilkinson, 1963 ; Eberhart et Russell, 1966 ; Freeman et Perkins, 1971).

Plusieurs mutagènes chimiques ont déjà été utilisés dans l'hybridation du ver à soie du mûrier *Bombyx mori* L. afin d'obtenir une variété présentant une vigueur stable (Murakami, 1975 ; Murota et Murakami, 1977 ; Datta et coll., 1978 ; Segal et Owens, 1983 ; Pai et coll., 1985). Les études de Murakami (1975) et de Tazima et Onimara (1978) ont révélé qu'il était possible d'induire un grand nombre d'alkylants monofonctionnels chez le ver à soie. Gaur et Mehrotra (1980) et Pai et coll. (1985) ont décrit les effets de l'*Apron 35SD* et du méthane-sulfonate éthylique respectivement chez le ver à soie du mûrier et le ver à soie sauvage *tasar*. Murakami (1985) a également observé une mutation par induction après traitement à l'alfatoxine B1 chez *B. mori*.

On dispose de peu de données sur l'interaction génotype-mutagène chez *B. mori* pour ce qui concerne les caractères quantitatifs comme la longueur de la bave. Cette étude a donc été réalisée avec 16 génotypes issus de quatre variétés de *B. mori* traitées au stade oeuf avec le mutagène chimique N-nitroso-N-éthylurée (NEU) afin de déterminer le(s) génotype(s) le(s) plus stable(s) pour ce qui concerne la longueur de la bave, caractère très important sur le plan économique.

MATERIELS ET METHODES

Pour cette expérience, des oeufs de quatre variétés de *B. mori* (*Nistari-L*, *Nistari-G*, *RB-112* et *BSRI-801*) ont été fournis par la Banque génétique du *Bangladesh Sericultural Research and Training Institute* (Rajshahi) et le mutagène NEU a été utilisé sur des oeufs âgés de 1 jour. Trois doses expérimentales, 20, 25 et 30 mM (millimoles), ont été préparées par addition des quantités voulues de NEU dans de l'eau distillée et placées individuellement dans un dessiccateur hermétique pendant 12 heures à 25 °C. Quatre réplicats ont été utilisés pour chacun des groupes non traités (témoin) et

traités au NEU pour l'estimation de l'induction dans les croisements sélectifs. Les larves de *B. mori* écloses des oeufs traités et non traités ont été élevées suivant les méthodes de Krishnaswami (1978). Les larves matures ont été transférées sur des encabanages en bambou. Les cocons ont été récoltés et dévidés à la machine pour obtenir les baves.

L'expérience a été réalisée pour les générations parentales et les générations F_1 de douze croisements sélectifs. L'approche génotypique a été découpée en composants linéaires et non linéaires d'après la méthode de régression (Eberhart et Russell, 1966). Les réactions ont été enregistrées d'après la méthode de Finlay et Wilkinson (1963) et le paramètre de stabilité a été calculé sur la base de l'écart du carré moyen par rapport à l'équation linéaire (Eberhart et Russell, 1966). Les analyses de variance ont été réalisées à l'aide du programme Kwickstat.

Les expériences ont été conduites au Laboratoire de recherches séricicole (Département de Zoologie, Université de Rajshahi) à $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats montrent que les génotypes ont une interaction significative avec les doses de mutagène (Tableau I), ce qui corrobore les observations de Murakami (1985).

Les estimations d'indices de doses (Fig. 1) révèlent que la dose de NEU la plus efficace est de 25 mM et la moins efficace de 30 mM pour induire une vigueur hybride supérieure et une bave plus longue chez le ver à soie.

L'estimation de la stabilité génotypique peut être calculée en considérant la régression linéaire "b" (Finlay et Wilkinson, 1963) ou les deux composants linéaire "b" et non linéaire " S_d^2 " (Eberhart et Russell, 1966). En outre, les valeurs de "b" peuvent être considérées comme une réaction tandis que les valeurs de " S_d^2 " sont les plus appropriées pour le calcul de la stabilité génotypique (Reich et Atkins, 1970 ; Paroda et Hays, 1971 ; Stroike et Johnson, 1972 ; Langer et coll., 1979). Cependant, pour juger la stabilité d'un génotype, le résultat obtenu ici a été enregistré d'après la performance moyenne ($\bar{x}$), la réaction (b) et l'écart de la régression " S_d^2 " (Tableau II).

Un génotype satisfaisant doit présenter une performance moyenne élevée et des valeurs minimales pour le coefficient de régression unitaire et la valeur " S_d^2 ". Cependant, la plupart des génotypes considérés dans cette étude ne réunissent pas ces trois critères. De nombreuses combinaisons différentes étant possibles pour le paramètre de stabilité, une interprétation quelque peu différente est nécessaire : une variété présentant une performance moyenne élevée, une valeur élevée pour "b" et une valeur faible pour " S_d^2 " pourrait être considérée comme un génotype particulièrement adapté à un environnement spécifique donné (Stroike et Johnson, 1972).

Les génotypes *Nistari-L* $\times$ *BSRI-801*, *BSRI-801* $\times$ *Nistari-L*, *Nistari-G* $\times$ *RB-112* et *BRSI-801* $\times$ *Nistari-G* donnent une bonne performance fortement prévisible pour la longueur de la bave après traitement au NEU. Un génotype ayant des performances moyennes comparativement élevées avec des valeurs modérément faibles pour "b" et " S_d^2 " sera également considéré comme prometteur. Le génotype *BSRI-801* $\times$ *RB-112* semble répondre à ces critères. De plus, les génotypes ayant des valeurs faibles pour $\bar{x}$, "b" et " S_d^2 " donneront des performances médiocres pour tous les traitements.

Les paramètres de stabilité étudiés ici montrent que l'interaction génotype-mutagène joue un rôle significatif pour la détermination des caractères quantitatifs comme la longueur de la bave chez *B. mori*. Cette étude révèle également que la dose recherchée de NEU, 25 mM, pourrait s'avérer très prometteuse pour l'exploitation des génotypes performants de ver à soie.

DURATION OF THE LARVAL PERIOD OF PURE SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) BREEDS AND HYBRIDS IN SPRING AND FALL¹

J.O. ARNAUT DE TOLEDO², R. TAKAHASHI³ & E.B. MALHEIROS⁴

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP,
Rodovia Carlos Tonanni km 5, 14870-000 Jaboticabal, São Paulo, Brazil.

The larval period is the factor directly affecting rearing time, when the larvae receive special care. The objective of the present study was to determine the larval performance of silkworm hybrids ($AJ_1 \times BC_1$ and $BC_1 \times AJ_1$) and pure breeds (AJ_1 and BC_1). The experiment was conducted at the Sericulture Sector of the Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAVJ)-UNESP, with both hybrids and pure breeds being submitted to two different seasons: S_1 (spring) and S_2 (fall). Larval performance was better among the hybrids, showing that the generation resulting from reciprocal crosses of two pure breeds is indeed superior to the two parental lines.

Keywords: Larval period, *Bombyx mori*, pure breeds, hybrids.

INTRODUCTION

Sericulture is part of Industrial Entomology which studies the exploitation of useful insects. Among them are silkworms, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera, family Bombycidae), which occupy a very important place among useful insects.

The larval period has a direct effect on rearing time when the larvae receive special care (Krishnaswami *et al.*, 1973). According to Takahashi (1992), the time from larval birth to commercialization is 30 to 35 days. However, since today most of egg-producing institutes belonging to filatures rear the first two instars, sericulturists start rearing silkworms from the 3rd instar and cocoon production occurs within 25 to 28 days.

According to Doira (1978), the duration of each instar of the silkworm, *Bombyx mori* L., depends on breed, rearing season and space provided for larval rearing. According to Fonseca and Fonseca (1988), 5th instar silkworm larvae complete this stage within 8 to 10 days at ambient temperature of 20 to 23 °C and 70% relative humidity. Paolieri and Fonseca (1988) concluded that there are breeds of low productivity which, when crossed, give origin to extraordinarily productive hybrids. The contrary occurs with apparently more productive breeds since there are factors such as resistance to common silkworm diseases and general combining ability that vary from breed to breed.

In order to obtain highly productive species, several breeds are crossed and studied and those whose potential is proved in experimental fields are selected (Okino, 1982). Hybrids are currently used to take advantage of heterosis, especially between Japanese and Chinese breeds.

1. Part of the Master's thesis of the first author, who was the recipient of fellowships from FAPESP and CNPq.

2. Zootechnician, holder of a Master's degree in Genetic Animal Breeding, FCAV-Jaboticabal Campus.

3. Assistant Professor, DZNR - FCAVJ-UNESP.

4. Associate Professor, Department of Exact Sciences, FCAVJ-UNESP.

Table I. F value, coefficient of variation (CV%) and mean values of duration of each instar (hours) and larval period (hours) during two seasons (S₁ and S₂) for each pure breed and hybrid.

Tableau I. Valeur de F, coefficient de variation (CV%) et valeurs moyennes de la durée de chaque âge (en heures) et la période larvaire (en heures) au cours de deux saisons (S₁ et S₂) pour chacune des races pures et chacun des hybrides.

	F values / Valeurs de F					
	1st instar	2nd instar	3rd instar	4th instar	5th instar	Instar duration
	1er âge	2e âge	3e âge	4e âge	5e âge	Durée des âges larvaires
Treatment / Traitement (T)	9.89**	1.79 ^{NS}	0.34	1.50 ^{NS}	15.75**	21.55**
Season / Saison (S)	155.30**	43.36**	250.20**	275.45**	354.73**	850.21**
T × S interaction / Interaction T × S	5.46**	2.08 ^{NS}	0.25 ^{NS}	1.42 ^{NS}	7.96**	6.70**
CV%	3.80	6.07	5.07	7.50	3.92	0.78
S₁ means / Moyennes S₁ :						
F for (T) / F pour (T)	8.10**	2.00 ^{NS}	0.25 ^{NS}	1.43 ^{NS}	11.49**	14.02**
BC ₁	89.40 A ¹	72.60	74.40	114.60	233.40 A	588.80 A
AJ ₁	91.80 A	76.20	72.00	120.60	230.40 A	595.80 A
BC ₁ × AJ ₁	79.80 B	78.60	74.40	110.40	207.60 B	558.00 B
AJ ₁ × BC ₁	85.20 AB	70.20	75.00	122.40	205.20 B	555.60 B
LSD	(7.48)	-	-	-	(17.68)	(22.39)
S₂ means / Moyennes S₂ :						
F for (T) / F pour (T)	3.21 ^{NS}	0.25 ^{NS}	1.74 ^{NS}	3.83*	13.38**	14.73**
BC ₁	74.20	65.60	96.40	79.60 A	168.00 B	483.80 B
AJ ₁	76.00	65.20	95.20	79.00 AB	185.00 A	500.40 A
BC ₁ × AJ ₁	73.80	65.60	95.00	77.60 B	170.40 B	482.40 B
AJ ₁ × BC ₁	74.00	65.80	95.20	77.20 AB	169.80 B	482.60 B
LSD	-	-	-	(1.98)	(8.70)	(9.23)

S₁: spring; S₂: fall; BC₁ (male) × AJ₁ (female): hybrid with a Chinese father; AJ₁ (male) × BC₁ (female): hybrid with a Japanese father; BC₁: pure Chinese breed (males and females); AJ₁: pure Japanese breed (males and females); LSD: least significant difference; NS: non significant at the 5% level; *: significant at the 5% level; **: significant at the 1% level.

1. Means followed by equal letters in the columns did not differ significantly by the Tukey test.

S₁: printemps; S₂: automne; BC₁ (mâle) × AJ₁ (femelle): hybride avec un père chinois; AJ₁ (mâle) × BC₁ (femelle): hybride avec un père japonais; BC₁: souche chinoise pure (mâles et femelles); AJ₁: souche japonaise pure (mâles et femelles); LSD: différence la moins significative; NS: non significatif au seuil de 5%; *: Significatif au seuil de 5%; **: Significatif au seuil de 1%.

1. Les moyennes suivies d'une même lettre dans une même colonne ne diffèrent pas entre elles de manière significative d'après le test de Tukey.

Table II. F value, coefficient of variation (CV%) and mean values of duration of each ecdysis (hours) and total ecdysis time (hours) during two seasons (S₁ and S₂) for each pure breed and hybrid.

Tableau II. Valeur de F, coefficient de variation (CV%) et valeurs moyennes de la durée de chaque ecdysis (en heures) et durée totale des ecdysis (en heures) au cours de deux saisons (S₁ et S₂) pour chacune des races pures et chacun des hybrides.

	F values / Valeurs de F				
	1st ecdysis	2nd ecdysis	3rd ecdysis	4th ecdysis	Total ecdysis time
	1ère ecdysis	2e ecdysis	3e ecdysis	4e ecdysis	Durée totale des ecdysis
Treatment / <i>Traitement</i> (T)	1.97 ^{NS}	0.75 ^{NS}	1.03 ^{NS}	1.16 ^{NS}	2.57 ^{NS}
Season / <i>Saison</i> (S)	38.98 ^{**}	17.58 ^{**}	0.19 ^{NS}	13.95 ^{**}	82.63 ^{**}
T × S interaction / <i>Interaction T × S</i>	0.41 ^{NS}	1.21 ^{NS}	2.38 ^{NS}	0.58 ^{NS}	0.84 ^{NS}
CV%	7.87	5.72	4.34	6.36	2.68
S₁ means / Moyennes S₁ :					
F for (T) / <i>F pour (T)</i>	0.35 ^{NS}	1.11 ^{NS}	1.78 ^{NS}	0.86 ^{NS}	2.16 ^{NS}
BC ₁	25.20	26.40	25.80	27.00	104.40
AJ ₁	25.20	25.80	25.20	25.80	102.00
BC ₁ × AJ ₁	26.40	27.00	24.00	25.20	102.60
AJ ₁ × BC ₁	25.80	27.60	25.80	27.00	106.20
S₂ means / Moyennes S₂ :					
F for (T) / <i>F pour (T)</i>	2.92 ^{NS}	0.77 ^{NS}	1.29 ^{NS}	1.00 ^{NS}	1.07 ^{NS}
BC ₁	22.00	25.00	24.80	24.80	96.60
AJ ₁	20.40	25.00	24.80	24.20	94.40
BC ₁ × AJ ₁	23.20	24.00	25.40	24.20	96.80
AJ ₁ × BC ₁	22.20	25.00	25.20	24.20	96.60

S₁: spring; S₂: fall; BC₁ (male) × AJ₁ (female): hybrid with a Chinese father; AJ₁ (male) × BC₁ (female): hybrid with a Japanese father; BC₁: pure Chinese breed (males and females); AJ₁: pure Japanese breed (males and females); NS: non significant at the 5% level; *: significant at the 5% level; **: significant at the 1% level.

*S₁ : printemps ; S₂ : automne ; BC₁ (mâle) × AJ₁ (femelle) : hybride avec un père chinois ; AJ₁ (mâle) × BC₁ (femelle) : hybride avec un père japonais ; BC₁ : souche chinoise pure (mâles et femelles) ; AJ₁ : souche japonaise pure (mâles et femelles) ; NS : non significatif au seuil de 5 % ; * : Significatif au seuil de 5 % ; ** : Significatif au seuil de 1 %.*

The objective of the present study was to determine the duration of each biological phase (duration of 1st, 2nd, 3rd, 4th and 5th instar and of 1st, 2nd, 3rd and 4th sleep and hatching) for two hybrids and two pure breeds in order to determine larval performance.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out at the Sericulture Sector of the Department of Non-Ruminant Animal Husbandry, Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences of Jaboticabal (FCAVJ-UNESP), São Paulo, Brazil.

Two pure breeds, BC₁ (Chinese) and AJ₁ (Japanese), and two hybrids, AJ₁ × BC₁ and BC₁ × AJ₁, were considered as treatments for the comparison of the duration of each instar, sleep and ecdysis, with 5 replications during two different seasons, i.e., spring (S₁) and fall (S₂). The days and hours of duration of the five instars and of each ecdysis through which silkworm larvae pass were recorded.

Data were analyzed statistically by the Statistical Analysis System software with a fully randomized design. The Tukey test was used to compare means, with the level of significance set at 5%. Joint analysis was used to determine the effect of season on all parameters analyzed.

RESULTS AND DISCUSSION

Duration of each instar:

Statistical analysis showed no difference between treatments with respect to most of the parameters studied (Table I). There was a difference for season ($P < 0.05$), with S₁ having a stronger effect on 1st and 5th instars and S₂ having a stronger effect on 4th and 5th instars.

Both the hybrids and the pure breeds required a mean time of 3 days to complete the 1st instar, with hybrid BC₁ × AJ₁ showing 11.28% better performance than the other hybrid and the pure breeds during S₁. For the 2nd, 3rd and 4th instars, the larvae developed normally, with no significant effect of season on larval period.

During the 5th instar and S₁, the hybrids presented a 12.35% better development compared to the pure breeds.

During S₂ there was no significant effect for 1st, 2nd or 3rd instar. During the 4th and 5th instars there was a difference between treatments ($P < 0.05$) due to a fall in temperature (4th instar) followed by normalization (5th instar).

Duration of ecdysis:

There was no difference in ecdysis ($P > 0.05$) between hybrids and pure breeds (Table II), whereas season significantly affected almost all ecdyses, except the third. Treatment × season interaction did not present differences ($P > 0.05$), demonstrating that the duration of ecdysis was affected only by season and was similar for hybrids and pure breeds.

There was a significant difference ($P < 0.05$) in larval period between treatments, seasons and treatment × season interaction (Table I). The hybrids showed a 6.38% superiority, with a mean duration of 556.8 hours compared to 592.3 hours for pure breeds during S₁. During S₂, the hybrids and the pure breed BC₁ presented a larval period of 482.93 hours (3.62% superiority) compared to the AJ₁ pure breed, whose mean larval time was 500.40 hours.

CONCLUSIONS

Since the larval period has a direct effect on rearing time, when the larvae receive special care, the hybrids were outstanding by showing a shorter larval period during both S₁ and S₂. In turn, the pure breed BC₁ had a shorter larval period (24.5 days during S₁ and 20.2 days during S₂) than the pure breed AJ₁ (24.8 and 21.0 days, respectively), showing better precocity than the latter.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are indebted to CNPq for a post-graduate fellowship and to FAPESP for financial support.

REFERENCES

- DOIRA H. (1978) *In* The silkworm: an Important Laboratory Tool. Y. Tazima ed., Kodansha, Tokyo, 307 pp.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C. (1988) *Cultura da amoreira e criação do bicho-da-seda*. Nobel, São Paulo, 246 pp.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMARARAJ S. (1973) *Manual on Sericulture. Vol. 2 Silkworm rearing*. FAO Agric. Services, Rome, Bull. 15, 131 pp.
- OKINO I. (1982) *Manual de sericultura*. Bauru, 80 pp.
- PAOLIERI L. (1965) Estudos experimentais comparativos de raças de bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.). *Boletim técnico de Sericultura* no. 45, Campinas, 56 pp.
- PAOLIERI L., FONSECA A.S. (1976) Criação experimental de raças do bicho-da-seda, *Bombyx mori* L. *Boletim da Indústria Animal*, 33(2), 301-311.
- TAKAHASHI R. (1992) *Sericultura*. Apostila, FCAV-Jaboticabal, 134 pp.

DUREE DES AGES LARVAIRES DE RACES PURES ET D'HYBRIDES DE VER A SOIE (*BOMBYX MORI* L.) AU PRINTEMPS ET A L'AUTOMNE

J.O. ARNAUT DE TOLEDO, R. TAKAHASHI & E.B. MALHEIROS

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP,
Rodovia Carlos Tonanni km 5, 14870-000 Jaboticabal, São Paulo, Brésil.

La durée des âges larvaires est un facteur qui a une influence directe sur la durée de l'élevage, période durant laquelle les larves requièrent des soins particuliers. L'objectif de cette étude est de déterminer la performance larvaire d'hybrides ($AJ_1 \times BC_1$ et $BC_1 \times AJ_1$) et de races pures (AJ_1 et BC_1) de ver à soie. L'expérience a été réalisée à la section séricicole de la Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAVJ-UNESP) sur des hybrides et des races pures soumises à deux saisons différentes : S_1 (printemps) et S_2 (automne). La performance larvaire est meilleure chez les hybrides ; ceci montre que la génération issue de croisements réciproques de deux races pures est bien supérieure aux deux races parentales.

INTRODUCTION

La sériciculture fait partie de l'entomologie agricole qui étudie l'exploitation d'insectes utiles. Parmi ceux-ci, le ver à soie *Bombyx mori* L. (Lepidoptera, famille Bombycidae) occupe une place prépondérante.

La période larvaire a un effet direct sur la durée de l'élevage, lorsque les larves font l'objet de soins particuliers (Krishnaswami et coll., 1973). D'après Takahashi (1992), le laps de temps entre la naissance et la commercialisation est de 30 à 35 jours. Cependant, la plupart des centres de production d'oeufs appartenant aujourd'hui à des filatures s'occupent de l'élevage des deux premiers âges, les sériciculteurs commençant à élever les larves à partir du troisième âge et la production de cocons a lieu 25 à 28 jours plus tard.

D'après Doira (1978), la durée de chaque âge du ver à soie *Bombyx mori* L. est fonction de la race, de la saison d'élevage et de l'espace prévu pour l'élevage des larves. D'après Fonseca et Fonseca (1988), les larves du cinquième âge terminent ce stade en 8 à 10 jours à une température ambiante de 20 à 23 °C et une humidité relative de 70 %. Paolieri et Fonseca (1988) ont conclu qu'il existe des races à faible productivité qui, lorsqu'elles sont croisées, donnent naissance à des hybrides extraordinairement productifs. On observe le phénomène inverse chez des races apparemment plus productives car certains facteurs, tels que la résistance aux maladies communes du ver à soie et la capacité combinatoire acquise, varient d'une race à l'autre.

Pour obtenir des espèces performantes, plusieurs souches sont croisées et étudiées ; on sélectionne ensuite celles dont le potentiel est démontré au niveau expérimental (Okino, 1982). Les hybrides sont actuellement utilisés pour exploiter l'hétérosis, particulièrement entre les races japonaises et les races chinoises.

Cette étude a pour objet de déterminer la durée de chaque phase biologique (durées des 1er, 2e, 3e, 4e et 5e âge et des 1ère, 2e, 3e et 4e mues ainsi que l'éclosion) chez deux hybrides et deux races pures afin d'évaluer la performance larvaire.

MATERIELS ET METHODES

L'expérience a été réalisée à la section séricicole du Département d'élevage des animaux non ruminants de la Faculté des sciences agricoles et vétérinaires de Jaboticabal (FCAVJ-UNESP), São Paulo, Brésil.

Deux races pures, BC₁ (race chinoise) et AJ₁ (race japonaise), et deux hybrides, AJ₁ × BC₁ et BC₁ × AJ₁, ont été considérés comme traitements dans la comparaison de la durée larvaire de chaque âge, de la durée de la mue et de l'ecdysis, avec 5 réplicats au cours de deux saisons différentes, le printemps (S₁) et l'automne (S₂). On a relevé le nombre de jours et d'heures des cinq âges larvaires et de chaque ecdysis par lesquels passe le ver à soie.

Les données ont été analysées statistiquement sur un système logiciel d'analyse statistique entièrement aléatoire. Le test Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes, sur la base d'un seuil de signification fixé à 5 %. Une analyse combinée a été réalisée afin de déterminer l'effet des saisons sur tous les paramètres considérés.

RESULTATS ET DISCUSSION

Durée de chaque âge larvaire :

L'analyse statistique ne fait apparaître aucune différence entre les traitements pour la plupart des paramètres étudiés (Tableau I). On constate une différence pour la saison ($P < 0,05$) ; S₁ a un effet marqué sur le 1er et le 2e âge et S₂ sur le 4e et le 5e âge.

Les hybrides et les races pures mettent en moyenne 3 jours pour terminer le 1er âge, l'hybride BC₁ × AJ₁ présente un résultat supérieur de 11,28 % à ceux obtenus pour l'autre hybride et les races pures au cours de S₁. Pour le 2e, le 3e et le 4e âge, les larves se développent normalement, sans effet significatif de la saison sur la période larvaire.

Pour le 5e âge et la saison S₁, les hybrides ont un développement supérieur de 12,35 % à celui des races pures.

S₂ n'a aucun effet significatif sur le 1er, le 2e et le 3e âge. Pour le 4e et le 5e âge, on observe une différence entre les traitements ($P < 0,05$) due à une chute de la température (4e âge) puis un rétablissement de la normale (5e âge).

Durée de l'ecdysis :

On ne constate aucune différence d'ecdysis ($P > 0,05$) entre les hybrides et les races pures (Tableau II), alors que la saison a un effet significatif sur pratiquement toutes les ecdysis sauf la troisième. L'interaction traitement × saison ne fait apparaître aucune différence ($P > 0,05$) ; ceci démontre que la durée de l'ecdysis est affectée uniquement par la saison et est identique pour les hybrides et les races pures.

On constate une différence significative ($P < 0,05$) pour la durée larvaire entre les traitements, les saisons et l'interaction traitement × saison (Tableau I). Les hybrides présentent une supériorité de 6,38 %, avec une durée moyenne de 556,8 heures contre 592,3 heures chez les races pures pour S₁. Pour S₂, les hybrides et la race pure BC₁ présentent une durée larvaire de 482,93 heures (supériorité de 3,62 %) contre 500,40 heures chez la race pure AJ₁.

CONCLUSIONS

La durée des âges larvaires ayant un effet direct sur la durée de l'élevage, période à laquelle les larves demandent des soins particuliers, il ressort que les hybrides sont plus performants car ils présentent une durée larvaire plus courte aussi bien pour S₁ que pour S₂. La race pure BC₁ a une durée larvaire plus courte (24,5 jours pour S₁ et 20,2 jours pour S₂) que la race pure AJ₁ (24,8 et 21,0 jours respectivement) et présente une meilleure précocité que cette dernière.

EFFECT OF ULTRASOUND ON THE DEVELOPMENTAL PERIOD AND ECONOMIC CHARACTERS OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

B. SURENDRA NATH*, B. MAHENDRA VARMA, N.B. VIJAYA PRAKASH* & R.P. SURENDRA KUMAR

Department of Zoology, Sri Krishnadevaraya University, Anantapur - 515 003, A.P., India.

Exposure of silkworm, Bombyx mori, (NB7 and NB18) eggs to a continuous wave of 875 kHz ultrasound at 10 W/cm² intensity for 5 minutes resulted in a significant increase in larval body weight, single cocoon weight and single shell weight. Larvae entered 14 to 16 hours early into spinning, avoiding one to two feeds at the fifth instar. In addition, there was a 7 to 8% increase in the filament length over the controls.

Keywords: *Bombyx mori*, ultrasound, silkworm eggs, irradiation, cocoon characters, silk production.

INTRODUCTION

Silk production is one of the important agro-based economic projects for small- and medium-scale farmers in India. Trials to increase silk quantity by different modalities have been made in the past. Besides chemical treatment, magnetic energy (Chougale and More, 1992), laser rays (Kanarev and Chan, 1985) and gamma rays (Ohi, 1961) were tried to determine whether silk production could be enhanced. Significant results were not achieved in some fields. However, ultrasound, a non-ionising and safe energy, was never experimented in this direction of possible increase in the silk yield. Hence, the present investigation was taken up to ascertain whether ultrasound could enhance the silk yield by exposing the silkworm eggs to a specific period and intensity.

MATERIALS AND METHODS

Pure bivoltine (NB7 and NB18) eggs were irradiated at 24 hours of age after acid treatment.

Each disease-free laying (dfl) containing about 400 to 500 eggs was placed in a 100 ml beaker which was filled with degassed water. The transducer was placed on the top of the beaker so that the lower surface of the transducer was touching the water surface. A continuous wave of 875 kHz frequency of ultrasound was generated from the ultrasonic generator supplied by M/s Rallsonics India Ltd., Bombay, India, and the exposure was carried out for 5 minutes at an intensity of 10 W/cm². (This range was obtained on a trial and error basis, after exposing silkworm eggs to 1 to 10 minutes with 10 and 15 W/cm² intensity of ultrasound).

The insonated eggs were incubated under standard conditions. After hatching the larvae were maintained in the environmental chamber up to spinning according to standard rearing methods.

After completion of feeding, post-cocooning characters such as single cocoon weight, single shell weight, shell ratio and average filament length were determined by using standard methods. Four dfls of each race were used. Eggs without irradiation treatment were kept as controls.

* Present address: Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, India.

All the results obtained in this investigation were subjected to statistical analysis. For this, the data were fed to the computer and 't' values are derived at the 5% level.

RESULTS

The results obtained from the present study are documented in Table I.

The maximum larval duration for NB7 and NB18 silkworm races was about 25:5 and 25:10 days

Table I. Effect of ultrasound irradiation on the silkworm, *Bombyx mori*, (NB7 and NB18 races) fed *ad libitum* on *Morus alba* at $26 \pm 1^\circ\text{C}$ and $80 \pm 5\%$ RH.

Tableau I. Effets de l'exposition aux ultrasons sur le ver à soie *Bombyx mori* (races NB7 et NB18) nourris à volonté avec *Morus alba* à $26 \pm 1^\circ\text{C}$ et $80 \pm 5\%$ d'humidité relative.

Parameters Paramètres	Control Témoins		Experimental Groupe expérimental	
	NB7	NB18	NB7	NB18
A. Larval duration (hr) A. Durée larvaire (h)	605 $\pm$ 05	610 $\pm$ 07	589 $\pm$ 03 (-2.7%) P < 0.01	596 $\pm$ 04 (-2.3%) P < 0.02
B. Weight of 10 mature larvae (g) B. Poids de 10 larves matures (g)	42.7 $\pm$ 2.4	40.4 $\pm$ 1.2	49.3 $\pm$ 3.6 (+15.5%) P < 0.02	45.9 $\pm$ 2.8 (+13.8%) P < 0.01
C. Single cocoon weight (g) C. Poids d'un cocon (g)	1.831 $\pm$ 0.136	1.783 $\pm$ 0.120	2.065 $\pm$ 0.151 (+12.8%) P < 0.05	1.989 $\pm$ 0.133 (+11.6%) P < 0.05
D. Single shell weight (g) D. Poids d'une coque (g)	0.361 $\pm$ 0.022	0.372 $\pm$ 0.030	0.427 $\pm$ 0.037 (+18.3%) P < 0.02	0.433 $\pm$ 0.043 (+16.3%) P < 0.05
E. Shell ratio (%) E. Richesse soyeuse (%)	19.72 $\pm$ 1.01	20.86 $\pm$ 1.21	20.68 $\pm$ 1.19 (+4.9%) NS	21.77 $\pm$ 1.35 (+4.4%) NS
F. Filament length (m) F. Longueur de la bave (m)	861.0 $\pm$ 22.0	893.0 $\pm$ 31.0	935.0 $\pm$ 38.0 (+8.6%) P < 0.02	962.0 $\pm$ 29.8 (+7.7%) P < 0.02

$\pm$: Standard deviation / Ecart type.

P: Level of significance / Seuil de signification.

NS: Not significant relative to the controls / Non significatif par rapport aux témoins.

Percentage of increase/decrease relative to the controls is given in parentheses. Each value is based on six replicants.

Le pourcentage d'augmentation ou de diminution par rapport aux témoins est indiqué entre parenthèses. Chaque valeur est basée sur six réplicats.

and hours. The ultrasound irradiated batches showed a significant change, with a larval duration reduced by 16 and 14 hours in NB7 and NB18, respectively, wherein the weight of 10 mature larvae also increased significantly by 15.5% and 13.8% respectively for NB7 and NB18 (Table I).

A significant increase in the cocoon characters, i.e., single cocoon weight and single shell weight, in both races was observed with ultrasound irradiation. The single cocoon weight increased to 12.8% and 11.6% and the single shell weight to 18.3% and 16.3% in both NB7 and NB18. However, there was no significant effect on shell ratio (Table I).

The average filament length showed a significant increase with ultrasound irradiation. The maximum increase was about 8.6% and 7.7%, respectively for NB7 and NB18 (Table I).

DISCUSSION

Magnetic energy (Chougale and More, 1992) laser rays (Kanarev and Chan, 1985) and gamma rays (Ohi, 1961) have been found to shortened the larval period and to a certain extent to improve the silk yield. Similar results were obtained in the present investigation in spite of the use of a non-ionising energy, i.e., ultrasound. The species used by earlier workers also was *Bombyx mori*, which was used in the present study. The body weight increased, 5th instar entering into spinning 14 to 16 hours earlier, which avoids one to two feeds, is highly economical to the farmers and has not been reported before. Besides, the filament length was also enhanced significantly. Ultrasound is known to have enhanced DNA synthesis (Elmer and Fleischer, 1975) and hormonal secretion (Schereva, 1980). In the present investigation the significant increase in silk yield could be categorically assigned to the rapid rate of protein synthesis. The ultrasound appears to have made a profound effect on the earlier transcriptions, which is to be verified. However, the results, at the outset, are of significance because of the possible benefits in the economics of farmers.

REFERENCES

- CHOUGALE A.K., MORE N.K. (1992) Effect of magnetisation on the developmental period and cocoon characters of the silkworm, *Bombyx mori* (L.). Indian J. Seric., 31(2), 115-122.
- ELMER W.A., FLEISCHER A.C. (1975) Enhancement of DNA synthesis in neonatal mouse tibial epiphyses after exposure to therapeutic ultrasound. J. Clin. Ultrasound, 2, 191-195.
- KANAREV G., CHAN D.T. (1985) Effect of laser irradiation of silkworm eggs on silkworm, *Bombyx mori*, development and productivity. Zhivotnov Nauki, 22, 47-53.
- OHI H. (1961) Studies on the effect of gamma rays irradiation at the embryonic stages upon the larval and cocoon characters in the silkworm. J. Sericult. Sci. Japan, 30, 401.
- SCHEREVA S. (1980) Investigation of the functional state of the thyroid gland after exposure to ultrasound. Biophysics, 25(6), 1070-1079.

EFFET DES ULTRASONS SUR LA DUREE DU DEVELOPPEMENT ET SUR LES CARACTERES ECONOMIQUES DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

B. SURENDRA NATH*, B. MAHENDRA VARMA, N.B. VIJAYA PRAKASH* & R.P. SURENDRA KUMAR

Department of Zoology, Sri Krishnadevaraya University, Anantapur - 515 003, A.P., Inde.

*L'exposition d'oeufs de *Bombyx mori* (NB7 et NB18) à une onde continue d'ultrasons à 875 kHz d'intensité de 10 W/cm² pendant 5 minutes se traduit par une augmentation significative du poids larvaire, du poids du cocon et du poids de la coque. Les larves entrent au stade du filage 14 à 16 heures plus tôt, ce qui permet d'éviter un à deux nourrissages au cinquième âge. De plus, la longueur de la bave augmente de 7 à 8 % par rapport aux témoins.*

INTRODUCTION

La production de soie est l'un des principaux projets agricoles d'intérêt économique pour les fermes de petite et de moyenne taille en Inde. Des tests visant à augmenter la production de soie par différentes méthodes ont été effectués dans le passé. Outre les traitements chimiques, l'énergie magnétique (Chougale et More, 1992), les rayons laser (Kanarev et Chan, 1985) et les rayons gamma (Ohi, 1961) ont été testés afin de déterminer s'ils permettaient d'accroître la production de soie. Il n'a pas été possible d'obtenir de résultats significatifs dans certains domaines. Cependant, l'effet des ultrasons, énergie non ionisante et fiable, sur l'amélioration éventuelle du rendement en soie n'a jamais été évalué. Cette étude a donc été entreprise afin de déterminer si les ultrasons pouvaient améliorer le rendement en soie après exposition des oeufs de vers à soie à une intensité et sur une période déterminées.

MATERIELS ET METHODES

Des oeufs bivoltins purs (NB7 et NB18) ont été irradiés 24 heures après le traitement à l'acide.

Les pontes saines, comprenant environ 400 à 500 oeufs, ont été déposées individuellement dans des bechers de 100 ml remplis d'eau dégazée. Le transducteur a été placé au sommet du becher de façon que sa surface inférieure touche la surface de l'eau. Une onde continue d'ultrasons à une fréquence de 875 kHz a été générée à partir d'un générateur à ultrasons fourni par M/s Rallsonics India Ltd. (Bombay, Inde) et l'exposition a été réalisée pendant 5 minutes à une intensité de 10 W/cm² (cette condition a été déterminée de manière empirique, après avoir exposé les oeufs de vers à soie pendant 1 à 10 minutes à des intensités d'ultrasons de 10 et 15 W/cm²).

Les oeufs irradiés ont été incubés dans des conditions standard. Après l'éclosion, les larves ont été conservées dans la pièce climatique jusqu'au filage, conformément aux méthodes d'élevage standard.

A la fin du nourrissage, les caractères post-filage tels que le poids d'un cocon, le poids d'une coque, la richesse soyeuse et la longueur moyenne de la bave ont été déterminés selon les méthodes

* Adresse actuelle: Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, Inde.

conventionnelles. Quatre pontes saines pour chacune des races ont été utilisées. Des oeufs non irradiés ont été maintenus comme témoins.

Tous les résultats obtenus dans cette étude ont été soumis à analyse statistique. Pour cela, les données ont été saisies sur ordinateur et les valeurs "t" ont été calculées au seuil de 5 %.

RESULTATS

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau I.

La durée larvaire maximale est de 25,5 jours pour NB7 et de 25,10 jours pour NB18. Les lots irradiés aux ultrasons présentent des modifications significatives, avec une durée larvaire réduite de 16 heures pour NB7 et de 14 heures pour NB18 ; par ailleurs, le poids larvaire de 10 larves matures augmente, également de manière significative, de 15,5 % pour NB7 et de 13,8 % pour NB18 (Tableau I).

L'exposition aux ultrasons entraîne une augmentation significative des caractères du cocon (poids du cocon et poids de la coque) chez les deux races considérées. Le poids du cocon augmente de 12,8 % et de 11,6 % et le poids de la coque de 18,3 % et 16,3 % chez NB7 et NB18 respectivement. Cependant, aucun effet n'a été constaté sur la richesse soyeuse (Tableau I).

La longueur moyenne de la bave présente une augmentation significative après exposition aux ultrasons. L'augmentation maximale est d'environ 8,6 % chez NB7 et de 7,7 % chez NB18 (Tableau I).

DISCUSSION

L'énergie magnétique (Chougale et More, 1992), les rayons laser (Kanarev et Chan, 1985) et les rayons gamma (Ohi, 1961) entraînent une diminution de la période larvaire et, dans une certaine mesure, une amélioration du rendement en soie. Des résultats similaires ont été obtenus dans cette étude, malgré l'utilisation d'une énergie non ionisante, les ultrasons. L'espèce utilisée dans les études antérieures était *Bombyx mori*, espèce également utilisée ici. L'augmentation du poids larvaire et l'entrée en filage 14 à 16 heures plus tôt, évitant ainsi un à deux nourrissements, concernent directement les fermiers du fait de l'économie ainsi réalisée et sont décrits ici pour la première fois. En outre, la longueur de la bave augmente également de manière significative. Les ultrasons améliorent la synthèse de l'ADN (Elmer et Fleischer, 1975) et la sécrétion hormonale (Seherova, 1980). Dans cette étude, l'augmentation marquée du rendement en soie peut être attribuée, de manière certaine, au taux de synthèse rapide des protéines. Il apparaît que les ultrasons ont un effet prononcé sur les transcriptions précédentes, ce qui reste à vérifier. Cependant, de prime abord, ces résultats sont significatifs en raison des profits dont pourraient bénéficier les fermiers.

EFFECT OF *MELOIDOGYNE INCOGNITA*-INFECTED MULBERRY PLANTS AND THEIR TREATMENT WITH NEMATOCIDES ON FEEDING SILKWORMS, *BOMBYX MORI* L.

A. PAUL, S.P. SINHABABU & N.C. SUKUL*

Department of Zoology, Visva-Bharati University, Santiniketan - 731 235, West Bengal, India.

Two plots of land, each of 0.065 ha, were grown with high-bush mulberry plants of *Morus alba* naturally infested mainly with *Meloidogyne incognita*. The nematode population varied from 1480-2640 per kg of soil and 430-770 per 2 g of roots. One of the plots was treated with Furadan at 11 kg/ha and the other with an ethanol extract of funicles of *Acacia auriculiformis* at 0.40 kg/ha. Two applications were given at an interval of 15 days. Both nematicides reduced the nematode population in the rhizospheric soil and roots significantly. All the silkworm larvae fed on the leaves of Furadan-treated plants collected 30 days after the treatment died. Furadan residues in mulberry leaves contribute to the toxic effect. However, the larvae reared on the *Acacia*-treated plants showed a higher rate of consumption of leaves and improved larval and cocoon weights as well as shell ratio.

Keywords: *Bombyx mori*, *Morus alba*, *Meloidogyne incognita*, Furadan, *Acacia auriculiformis*, larval growth, cocoon weight, shell ratio.

INTRODUCTION

Plant parasitic nematodes, particularly *Meloidogyne incognita*, are known to infect mulberry plants and reduce their growth and leaf yield (Kiryanova *et al.*, 1976; Adylov *et al.*, 1977; Saha *et al.*, 1983; Qin *et al.*, 1985; Toida, 1991). In a recent pot experiment, we observed that *M. incognita* not only reduced leaf yield of mulberry plants but also lessened the leaf protein content. Silkworm larvae feeding on the leaves of nematode-infected plants suffered retarded growth. Treatment with Furadan, a conventional chemical nematicide, at 46 mg/plant improved plant growth. However, the silkworm larvae fed on the leaves of Furadan-treated plants did not show any significant improvement in their growth as well as silk yield (Paul *et al.*, 1992). In the present study, we used Furadan as well as an extract of a nematocidal plant, *Acacia auriculiformis*, and observed their effect on *M. incognita*-infected mulberry plants under field conditions and also on silkworm larvae fed on the leaves of the treated plants. The results obtained with each nematicide were compared with each other. Furadan was applied at a much higher dose than the one used in the pot experiment. The experiment was carried out at the Sriniketan Sericulture Composite Unit, Government of West Bengal, during May-July 1992.

MATERIALS AND METHODS

Estimation of the nematode population:

Soil and root samples were taken at random from a high bush mulberry plantation stretching over an area of 0.205 ha of land with a view to determining the extent and intensity of *M. incognita* infestation. Later, two plots, each measuring 0.065 ha of land, were demarcated in that area.

* To whom correspondence should be addressed.

M. incognita populations were estimated in the rhizospheric soil (Christie and Perry, 1951) as well as roots of mulberry plants (Das and Sukul, 1986) in each plot. Each plot contained 130 plants. Nematode populations in the same 0.205 ha of land outside the two demarcated plots were also estimated.

Treatment of the two plots with nematicides:

Plot I was treated with 3% Furadan (2,2-dimethyl-2,3-dihydro-7-benzofuranyl-N-methyl carbamate) at the rate of 11 kg/ha. The soil was upturned with a small spade around each plant. Furadan was mixed with water and applied to each plant at 20 ml/plant so that each plant received 5.5 g of Furadan. The nematicide was applied twice at an interval of 15 days.

Plot II was treated with the alcoholic extract of funicles of *Acacia auriculiformis* at 0.40 kg/ha. Air-dried and powdered funicles of *A. auriculiformis* were extracted with 90% ethanol at room temperature. The residue, obtained after removal of the solvent under reduced pressure, was dried over anhydrous calcium chloride (Sinhababu *et al.*, 1992). The residue was dissolved in distilled water at 10 mg/ml and the solution was applied to the field at the rate of 20 ml/plant. Thus each plant received 200 mg of the residue. The extract was applied twice at an interval of 15 days. Treatments of plots I and II were simultaneous and started on 16 May 1992. Thirty days after the second treatment, soil and root samples were taken at random from each plot and *M. incognita* populations were estimated.

Rearing of silkworms:

The eggs of a mother moth of the multivoltine Nistari race were divided into 4 batches and reared following the method of Krishnaswamy *et al.* (1972). The larvae of batch 1 were fed with the leaves of healthy plants collected from a neighbouring plot, those of batch 2 with the leaves of nematode-infected plants collected from the same 0.205 ha of land outside the two demarcated plots, those of batch 3 with the leaves of *Acacia*-treated plants and those of batch 4 with the leaves of Furadan-treated plants. Fresh leaves were given to the larvae 4 times daily. Mulberry leaves were used for feeding one month after the second and final treatment with nematicides. The larvae were kept inside the rearing chamber at 27 ± 2 °C and $70 \pm 15\%$ RH. The weights of the larvae and of the leaves consumed daily for each batch were recorded daily until the larvae started spinning. At the 5th instar, ten larvae from each batch were dissected and their silk glands weighed. The silk layer ratios (shell weight/cocoon weight $\times 100$) were determined for each batch. Data were analysed by analysis of variance.

RESULTS AND DISCUSSION

The populations of *M. incognita* obtained from the soil and root samples of plots I and II before and after treatment with nematicides are given in Table I. The *M. incognita* population outside the two plots but in the same 0.205 ha land varied from 1480-2640 per kg of soil and 430-770 per 2 g of roots. Besides *M. incognita*, there occurred *Hoplolaimus indicus* but the population of the latter never exceeded 5% of the total population of plant parasitic nematodes. Table I shows that both Furadan and the extract of *Acacia* reduced nematode populations in the rhizospheric soil and roots significantly. Furadan and *Acacia* extract reduced the population of *M. incognita* in the soil by 61% and 78%, respectively, after the second application. The root population showed 92% reduction with Furadan and 34% with the *Acacia* extract (Table I).

The effect of feeding silkworm larvae with mulberry leaves of nematicide-treated plants on larval growth and silk production is given in Table II. The table also includes the rate of consumption of leaves by the larvae. The larvae feeding on the leaves of Furadan-treated plants all died. The larvae feeding on the leaves of *Acacia*-treated plants showed a significant increase in weight as compared to those feeding on the leaves of nematode-infected untreated plants only in the 5th instar (Table II). The cocoon weight and shell ratio also increased significantly in the *Acacia*-treated batch as compared to the untreated one (Table II). It is interesting to note that although the leaf consumption was highest at the 4th instar in the *M. incognita*-infected batch, the corresponding larval weight was the same.

Leaf consumption was highest at the 5th instar with the healthy plant batch, followed by the *Acacia*-treated one.

Table I. Effect of Furadan at 11 kg/ha and of the ethanol extract of funicles of *Acacia auriculiformis* at 0.40 kg/ha on mulberry plants naturally infected with *Meloidogyne incognita* in two plots of 0.065 ha each.

Tableau I. Effet du Furadan à 11 kg/ha et de l'extrait éthanol de funicules d'*Acacia auriculiformis* à 0,40 kg/ha sur des plants de mûrier naturellement infestés par *Meloidogyne incognita* sur deux parcelles de 0,065 ha chacune.

Treatment	Pretreatment count		1st application		2nd application	
	Soil (1 kg)	Root (2 g)	Soil (1kg)	Root (2 g)	Soil (1kg)	Root (2 g)
	<i>Compte avant traitement</i>		<i>1ère application</i>		<i>2e application</i>	
<i>Traitement</i>	<i>Sol (1 kg)</i>	<i>Racines (2 g)</i>	<i>Sol (1 kg)</i>	<i>Racines (2 g)</i>	<i>Sol (1 kg)</i>	<i>Racines (2 g)</i>
Furadan (3G)	1950 ± 260	659 ± 154	1500 ± 183	178 ± 59	754 ± 90	55 ± 20
<i>Acacia</i> funicle extract <i>Extrait de funicules d'Acacia</i>	2010 ± 310	715 ± 129	1577 ± 210	450 ± 79	427 ± 83	468 ± 83

Although Furadan reduced nematode populations significantly in soil as well as roots, it might have left toxic residues in the leaves even after one month. Carbofuran is reported to persist in whole fruit of citrus orchards at 0.08 ppm concentrations 30 days after treatment (Rajakkannu *et al.*, 1989). Murthy *et al.* (1989) demonstrated that higher doses of Carbofuran degraded faster than lower doses. This might have led to the death of the feeding larvae. This situation was not so with the *Acacia* extract because the toxic botanical compound might have degraded during the one-month period following treatment. Moreover, the plant extract was applied at a much lower dose as compared to Furadan. The plant compound not only achieved a reasonable level of nematode control (Table I) but also led to a significant improvement in the growth of the larvae and silk production as compared to the larvae reared on the leaves of *M. incognita*-infected untreated plants. The results of the present field experiment are in agreement with those of our pot experiment (Paul *et al.*, 1992). However, in the pot experiments the larvae reared on Furadan-treated plants did not die. This might be due to the lower dose of compound applied as well as to the rapid draining out of the compound because of more frequent irrigation. The pot soil did not hold moisture for long and had to be irrigated frequently.

The differential consumption of the three different kinds of leaves of healthy, nematode-infected ones and *Acacia*-treated ones, by the feeding larvae, particularly at the 5th instar, may be ascribed to the differential palatability of the leaves. Hamamura *et al.* (1962) reported that feeding of silkworm larvae occurred in three distinct steps, each mediated by a discrete set of chemicals present in mulberry leaves. Ishikawa *et al.* (1969) stated that the interacting effects of a mixture of chemical stimuli was

Table II. Effect of *Meloidogyne incognita* infected and of Furadan and *Acacia* extract treated mulberry plants in a field on the growth of feeding silkworms.

Tableau II. Effet du nourrissage avec des feuilles de plants de mûrier infestés par *Meloidogyne incognita* et traités avec du Furadan ou de l'extrait d'*Acacia* sur la croissance des vers à soie.

Type of leaves given	Average leaf consumption (g)			Average larval weight (mg)			Average cocoon wt. (g)	Average shell wt. (g)	Shell ratio (%)
	3rd instar	4th instar	5th instar	3rd instar	4th instar	5th instar			
Type de feuilles données	Consommation moyenne de feuilles (g)			Poids larvaire moyen (mg)			Poids moyen du cocon (g)	Poids moyen de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)
	3e âge	4e âge	5e âge	3e âge	4e âge	5e âge			
HP	22.96 ± 1.4 ^a	100.5 ± 20.02 ^a	235.6 ± 34.25 ^a	52.1 ± 2.51 ^a	358.9 ± 20.15 ^a	1899 ± 107.11 ^b	0.73 ± 0.11 ^a	0.09 ± 0.02 ^b	12.45 ± 1.95 ^a
MP	18.87 ± 1.3 ^a	134.3 ± 28.21 ^c	188.48 ± 26.82 ^c	50.5 ± 2.0 ^a	329.5 ± 25.12 ^a	1798 ± 125.32 ^a	0.63 ± 0.12 ^c	0.07 ± 0.02 ^a	10.95 ± 2.79 ^c
AP	20.06 ± 1.3 ^a	115.4 ± 22.60 ^b	199.05 ± 30.02 ^b	58.9 ± 2.1 ^a	361.1 ± 18.7 ^a	1890 ± 111.35 ^b	0.68 ± 0.1 ^b	0.07 ± 0.01 ^a	11.39 ± 2.13 ^b

HP: Healthy plants / *Plants sains*.

MP: *M. incognita* infected plants / *Plants infestés par M. incognita*.

AP: *Acacia* treated plants / *Plants traités avec Acacia*.

a, b, c: Different small letters in a column indicate significant differences at the 5% level in the analysis of variance.

a, b, c : Différentes minuscules dans une même colonne indiquent des différences significatives au seuil de 5 % d'après l'analyse de variance.

far more important than individual stimuli as a determinant of the palatability of the diet to silkworms. In the pot tests we observed that the leaf protein content was significantly reduced in nematode-infected plants and treatment restored the condition to some extent (Paul *et al.*, 1992). The leaf protein content might be a factor contributing to the palatability. It appears that the larvae, at least at the 5th instar, could sense a subtle difference in palatability of the leaves. Chemoreceptor neurons responding to different chemical stimuli were identified from the maxillary sensilla of silkworm larvae (Ishikawa, 1969). Treatment with the *Acacia* extract improved the palatability of the leaves as compared to the nematode-infected untreated plants, resulting in higher consumption of the treated leaves by the larvae in the 5th instar (Table II).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Central Silk Board, Government of India, Mysore, for financing the present research project. We are also thankful to the Joint Director, Department of Sericulture, Government of West Bengal, Bolpur, for giving us permission to work in the Sericulture Garden at Sriniketan.

REFERENCES

- ADYLOV F.K. (1977) The nematode fauna of mulberry. Referativnyi Zhurnal, 8, 879.
- CHRISTIE J.R., PERRY V.G. (1951) Removing nematodes from soil. Proc. Helm. Soc. Wash., 18, 106-108.
- DAS S., SUKUL N.C. (1986) Biochemical changes of some crop plants due to root-knot nematode infestation. Proc. Nat. Symp. of New Dimension in Parasitology, Allahabad, India.
- HAMAMURA Y., HAYASHIYA K., NAITO K., MATSURA K., NISHIDA J. (1962) Food selection by silkworm larvae. Nature, 194, 754-755.
- ISHIKAWA S., HIRAO T., ARAI N. (1969) The chemosensory basis of host plant selection in the silkworm. Ent. Exp. Appl., 12, 544-554.
- KIRYANOVA E.S., SHAGALINA L.M. (1976) Parasitic root nematodes from the genus *Helicotylenchus* (Nematoda: Hoplolaimida) in Turkmenistan. Izves. Aka. Nauk Turk., 5, 90-92.
- KRISHNASWAMY S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMARARAJ S. (1972) Manual on Sericulture. Vol. 2 Silkworm rearing. Agric. Services Bull. 15, FAO, Rome.
- MURTHY M.M.K., SARKAR D.K., TIRUMALARAO K., REDDY G.P.V. (1989) Dissipation of Carbofuran residues in betelvine leaves. Agricult. Sci. Digest, 9(4), 221-224.
- PAUL A., SINHABABU S.P., SUKUL N.C. (1992) Effect of nematode infected mulberry plants on the growth and silk production of *Bombyx mori* L. Indian J. Seric. (in press).
- QIN J., ZHO S.L., DAI H.F. (1985) Preliminary studies on occurrence, injury and nematicidal control of mulberry root-knot nematodes in Zhejiang. Silkworm Sci., 11(1), 13-17.
- RAJAKKANNU K., VELAYUTHAM S., DORAISAMY P., PRASAD G. (1989) Residues of certain systemic nematicides in acid lime. Madras Agricult. J., 76(10), 598-600.
- SAHA S., SINHABABU S.P., SUKUL N.C. (1983) The effect of nematode infestation on mulberry plants and their effect on feeding silkworm *Bombyx mori*. Nematologica, 29, 463-467.
- SINHABABU S.P., ROY D., SUKUL N.C., MAHATO S.B. (1992) Nematicidal principle from *Acacia auriculiformis*. Proc. Nat. Symp. on Allelopathy in Agroecosystem, Hisar, India, 181-183.
- TOIDA Y. (1991) Mulberry damage caused by a root-knot nematode, *Meloidogyne mali*, indigenous to Japan. Japan Agric. Res. Quarterly, 24(4), 300-305.

EFFET DE L'INFESTATION DE PLANTS DE MURIER PAR *MELOIDOGYNE INCOGNITA* ET DE LEUR TRAITEMENT AVEC DES NEMATOCIDES SUR LE NOURRISSAGE DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

A. PAUL, S.P. SINHABABU & N.C. SUKUL*

Department of Zoology, Visva Bharati University, Santiniketan - 731 235, West Bengal, Inde.

Deux parcelles de terre de 0,065 ha chacune ont été utilisées pour la culture en arbustes de plants de mûriers *Morus alba* infestés naturellement principalement par *Meloidogyne incognita*. La population de nématodes varie de 1 480 à 2 640 par kg de sol et de 430 à 770 pour 2 g de racines. L'une des parcelles a été traitée avec du Furadan à raison de 11 kg/ha et l'autre avec un extrait éthanol de funicules d'*Acacia auriculiformis* à raison de 0,40 kg/ha. Deux applications ont été faites à 15 jours d'intervalle. Les deux nématocides donnent une réduction significative de la population de nématode dans le sol rhizosphérique et dans les racines. Toutes les larves de ver à soie nourries avec des feuilles de plants traités au Furadan récoltées 30 jours après le traitement sont mortes, les résidus de Furadan dans les feuilles de mûrier contribuent à leur effet toxique. Cependant, les larves élevées sur des plants traités à l'*Acacia* présentent un taux supérieur de consommation de feuilles ainsi qu'une amélioration des poids du cocon et de la coque, et de la richesses soyeuse.

INTRODUCTION

On sait que les nématodes parasites des végétaux, en particulier *Meloidogyne incognita*, infestent les plants de mûrier, entraînant une réduction de leur croissance et de leur rendement en feuilles (Kiryanova et coll., 1976 ; Adylov et coll., 1977 ; Saha et coll., 1983 ; Qin et coll., 1985 ; Toida, 1991). Lors d'une expérience sur des plants en pot, nous avons observé que *M. incognita* réduisait non seulement le rendement en feuilles des plants de mûrier mais également le contenu en protéines des feuilles. Les larves de ver à soie nourries avec des feuilles infestées par le nématode présentent un retardement de croissance. Le traitement au Furadan, nématocide chimique courant, à raison de 46 mg/plant améliore la croissance du plant. Cependant, les larves de ver à soie nourries avec des feuilles issues de plants traités au Furadan ne présentent pas d'amélioration significative de croissance et de rendement en soie (Paul et coll., 1992). Dans cette étude, nous avons utilisé le Furadan ainsi qu'un extrait de la plante nématocide *Acacia auriculiformis* et observé leur effet sur des plants de mûrier infestés par *M. incognita* en milieu naturel ainsi que sur des larves de ver à soie nourries avec des feuilles de plants traités. Les résultats obtenus pour chaque nématocide ont été comparés. Le Furadan a été appliqué à une dose beaucoup plus forte que celle utilisée lors de l'expérience utilisant des plants en pot. L'expérience décrite ici a été réalisée à la Sriniketan Sericulture Composite Unit, Gouvernement du Bengale occidental, de mai à juin 1992.

* Auteur à contacter pour toute correspondance.

MATERIELS ET METHODES

Estimation de la population de nématodes :

Des échantillons de sol et de racines ont été prélevés au hasard dans une plantation de mûriers en arbustes d'une surface de 0,205 ha afin de déterminer l'étendue et l'intensité de l'infestation par *M. incognita*. Dans une deuxième étape, deux parcelles, mesurant chacune 0,065 ha, ont été délimitées dans cette zone. Les populations de *M. incognita* ont été évaluées dans le sol rhizosphérique (Christie et Perry, 1951) ainsi que dans les racines des plants de mûrier (Das et Sukul, 1986) de chaque parcelle. Chaque parcelle contient 130 plants. Les populations de nématodes, toujours sur la zone de 0,205 ha mais hors des parcelles délimitées, ont également été estimées.

Traitement des deux parcelles avec les nématicides :

La parcelle I a été traitée avec du Furadan à 3 % (2,2-diméthyl-2,3-dihydro-7-benzofuranyl-N-méthyl carbamate) à raison de 11 kg/ha. Le sol autour de chaque plant a été retourné avec une petite bêche. Le Furadan a été mélangé à de l'eau et appliqué à chaque plant à raison de 20 ml/plant, de sorte que chaque plant a reçu 5,5 g de Furadan. Le nématicide a été appliqué deux fois à 15 jours d'intervalle.

La parcelle II a été traitée avec un extrait alcoolisé de funicules d'*Acacia auriculiformis* à raison de 0,40 kg/ha. Les funicules d'*A. auriculiformis*, séchés à l'air chaud et pulvérisés, ont été extraits avec de l'éthanol à 90 % à température ambiante. Le résidu, obtenu après élimination du solvant par pression réduite, a été séché sur du chlorure de calcium anhydre (Sinhababu et coll., 1992). Le résidu a été dissous dans de l'eau distillée à 10 mg/ml et la solution a été appliquée sur le terrain à raison de 20 ml/plant. Chaque plant a ainsi reçu 200 mg de résidu. L'extrait a été appliqué deux fois à 15 jours d'intervalle. Les traitements des parcelles I et II ont été réalisés simultanément et ont commencé le 16 mai 1992. Trente jours après le deuxième traitement, des échantillons de sol et de racines ont été prélevés au hasard dans chacune des parcelles et les populations de *M. incognita* ont été estimées.

Elevage des vers à soie :

Les oeufs d'un papillon femelle de la race polyvoltine Nistari ont été séparés en quatre lots et élevés suivant la méthode standard de Krishnaswamy et coll. (1972). Les larves du lot 1 ont été nourries avec des feuilles de plants sains prélevées dans une parcelle voisine, celles du lot 2 avec des feuilles de plants infestés par les nématodes prélevées dans la zone de 0,205 ha mais en dehors des parcelles délimitées, celles du lot 3 avec des feuilles de plants traités à l'*Acacia* et celles du lot 4 avec des feuilles de plants traités au Furadan. Des feuilles fraîches ont été données aux larves 4 fois par jour. Les feuilles de mûrier ont été utilisées pour le nourrissage un mois après le deuxième et dernier traitement avec les nématicides. Les larves ont été conservées à l'intérieur de la pièce d'élevage à 27 ± 2 °C et 70 ± 15 % d'humidité relative. Les poids des larves et de la consommation journalière de feuilles consommées ont été relevés pour chaque lot quotidiennement jusqu'au filage. Après le 5e âge, dix larves de chaque lot ont été disséquées et leurs glandes séricigènes ont été pesées. La richesse soyeuse (poids de la coque/poids du cocon $\times 100$) a été déterminée pour chaque lot. Les données ont été soumises à analyse de variance.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les populations de *M. incognita* provenant des échantillons de sol et de racines des parcelles I et II avant et après le traitement avec les nématicides sont présentées dans le tableau I. La population de *M. incognita* à l'extérieur des deux parcelles mais dans la même zone de 0,205 ha varie de 1 480 à 2 640 par kg de sol et de 340 à 770 pour 2 g de racines. Outre *M. incognita*, on a observé la présence de *Hoplolaimus indicus* mais la population de cette espèce ne dépasse jamais 5 % de la population totale de nématodes parasites des végétaux. Le tableau I montre que le Furadan et l'extrait d'*Acacia* donnent une réduction significative des populations de nématodes dans le sol rhizosphérique et dans les racines. Le Furadan et l'extrait d'*Acacia* donnent respectivement des réductions de 61 et 78 % de la population de *M. incognita* dans le sol. La population dans les racines diminue de 92 % avec le Furadan et de 34 % avec l'extrait d'*Acacia* (Tableau I).

L'effet du nourrissage des larves de ver à soie avec des feuilles de mûrier issues des plants traités avec un nématicide sur la croissance et la production de soie est présenté dans le tableau II. Ce tableau comprend également le taux de consommation de feuilles par les larves. Toutes les larves se nourrissant de feuilles des plants traités au Furan sont mortes. Les larves se nourrissant de feuilles des plants traités à l'*Acacia* présentent, au cinquième âge uniquement, une augmentation significative de leur poids par rapport à celles nourries de feuilles des plants infestés de nématodes et non traités (Tableau II). Le poids de la coque et la richesse soyeuse augmentent également de manière significative chez le lot traité à l'*Acacia* par rapport au lot non traité (Tableau II). Il est intéressant de noter que, bien que la consommation de feuilles soit maximale au 4^e âge chez le lot infestés de *M. incognita*, le poids larvaire correspondant est identique. La consommation de feuilles est maximale au 5^e âge chez le lot sain, devant le lot traité à l'*Acacia*.

Bien que le Furan réduise de manière significative les populations de nématode dans le sol et dans les racines, il pourrait laisser des résidus toxiques dans les feuilles même après un mois. Il a été observé que le Carbofuran persiste dans les fruits entiers des citronniers à des concentrations de 0,08 ppm 30 jours après le traitement (Rajakkannu et coll., 1989). Murthy et coll. (1989) ont démontré que le Carbofuran se dégrade plus vite à haute dose qu'à faible dose. Ceci pourrait avoir provoqué la mortalité des larves. La situation pour l'extrait d'*Acacia* est différente car il est possible que le composé botanique toxique se soit dégradé durant le mois qui a suivi le traitement. De plus, l'extrait végétal a été appliqué dans une dose beaucoup plus faible que le Furan. Ce composé végétal permet non seulement d'obtenir un niveau satisfaisant d'élimination des nématodes (Tableau I) mais aussi d'améliorer de manière significative la croissance des larves et la production de soie par rapport aux larves élevées sur des feuilles de plants infestés par *M. incognita*. Les résultats de cette expérience sur le terrain sont conformes à ceux que nous avons obtenus sur des plants en pot (Paul et coll., 1992). Cependant, dans nos expériences sur des plants en pot, aucune mortalité n'a été observée chez les larves élevées à partir de plants traités au Furan. Ceci pourrait être dû au fait qu'une concentration plus faible de ce composé a été appliquée et à son écoulement rapide en raison d'une irrigation plus fréquente. La terre des pots, ne retenant pas l'eau sur un laps de temps suffisamment long, a dû être irriguée fréquemment.

La différence de consommation des trois types de feuilles (plants sains, infestés par les nématodes et traités à l'*Acacia*) par les larves, particulièrement au cinquième âge, peut être attribuée à la différence de sapidité des feuilles. Hamamura et coll. (1962) ont observé que l'alimentation des larves de ver à soie se fait en trois étapes distinctes, chacune faisant intervenir un ensemble discontinu de substances chimiques présentes dans les feuilles de mûrier. Ishikawa et coll. (1969) ont établi que les effets de l'interaction de mélanges de stimulus chimiques sont beaucoup plus importants que les stimulus pris individuellement pour déterminer la sapidité de l'aliment chez les vers à soie. Lors de l'expérience sur les plants en pot, nous avons observé que le contenu en protéines des feuilles diminue de manière significative chez les plants infestés par des nématodes et que le traitement restaure cette condition dans une certaine mesure (Paul et coll., 1992). Il se peut que le contenu en protéines des feuilles soit un facteur de contribution à la sapidité. Il apparaît que les larves, du moins au cinquième âge, peuvent sentir une différence subtile du goût de la feuille. On a identifié des neurones chémorécepteurs qui réagissent à différents stimulus chimiques dans les sensilles maxillaires des larves de ver à soie (Ishikawa, 1969). Le traitement à l'extrait d'*Acacia* améliore la sapidité des feuilles par rapport aux feuilles des plants infestés non traités ; ceci entraîne une consommation plus importante de feuilles traitées par les larves du 5^e âge (Tableau II).

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

Sériciculture générale	589
General sericulture	
Mûrier	590
Mulberry	
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie	593
<i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	
Vers à soie : génétique	595
Silkworms: genetics	
Vers à soie : physiologie, biochimie	597
Silkworms: physiology, biochemistry	
Vers à soie : œufs, embryologie	600
Silkworms: eggs, embryology	
Vers à soie : glandes séricigènes	601
Silkworms: silk glands	
Soie	602
Silk	

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES - LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg) Bulgare / <i>Bulgarian</i>	(C) Chinois / <i>Chinese</i>
(D) Allemand / <i>German</i>	(E) Anglais / <i>English</i>
(F) Français / <i>French</i>	(J) Japonais / <i>Japanese</i>
(I) Italien / <i>Italian</i>	(Pl) Polonais / <i>Polish</i>
(K) Coréen / <i>Korean</i>	(R) Russe / <i>Russian</i>
(Pt) Portugais / <i>Portuguese</i>	(S) Espagnol / <i>Spanish</i>
(Ro) Roumain / <i>Rumanian</i>	

Les lettres minuscules correspondantes sont utilisées pour indiquer la langue du résumé.
The corresponding small letters indicate the language of the abstract.

Sériciculture générale

General sericulture

Le velours dans l'Ouest lyonnais de 1830 à 1930.

Velvet in the Lyonese West from 1830 to 1930.

COLLECTIF

L'Araire, Passage de l'Araire, 69510 Messimy-en-Lyonnnais, France.

1995 Bulletin périodique de l'Araire n° 102 : automne 1995, 94 p. (F)

Silk review 1995: a survey of international trends in production and trade.

Revue de la soie 1995 : une étude des tendances internationales de la production et du commerce.

COLLECTIF

International Trade Centre UNCTAD/GATT, Palais des Nations, 1211 Geneva 10, Switzerland.

1995 Livre (Book), 55 p. (E)

Technology upgradation programme for women sericulturists.

Programme d'amélioration de la technologie pour les femmes séricultrices.

GEETHADEVI R.G., MISRI A.K., THANGAVELU K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(5), 29-33. (E)

A discussion and study on exploiting uses of color cocoons.

Discussion et étude sur les utilisations des cocons de couleur.

HU Z.W. *et al.*

1995 Canye Kexue, Vol. 21(3), 200-201. (C)

Ericulture in Nagaland.

Ericulture dans le Nagaland.

RAJ NARAIN

P2 Basic Seed Farm, Sheeshambara, Dchradun, Uttar Pradesh, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(5), 38-40. (E)

SSTL: towards an appropriate seed technology.

SSTL : vers une technologie de grainage appropriée.

SAMSOM M.V.

Silkworm Seed Technology Laboratory, Bangalore, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(5), 15-20. (E)

Mûrier

Mulberry

Chlorosis in mulberry and remedial measures.

La chlorose chez le mûrier et les moyens d'y remédier.

BONGALE U.D.

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(5), 34-37. (E)

Culture of mulberry protoplasts and regeneration of plantlets.

Culture des protoplastes de mûrier et régénération des plantules.

CHEN A.Y., WANG Y., NI G.F.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 Canye Kexue, Vol. 21(3), 154-157. (C,e)

Constituents of the Moraceae plants. 21. Sanggenons R, S and T, three new isoprenylated phenols from the Chinese crude drug 'Sang-Bai-Pi' (*Morus* root bark).

Composants des Moraceae. 21. Sanggenons R, S et T, trois nouveaux phénols isoprénylés de la drogue chinoise à l'état brut "Sang-Bai-Pi" (écorce de racine de *Morus*).

HANO Y., ICHIKAWA K., OKUYAMA M., YAMANAKA J., MIYACHI T., NOMURA T.

1995 Heterocycles, Vol. 40, 953-965. (E)

Establishment of use and development of rational rearing house in collective mulberry field. 6. Studies on mulberry shoot harvester improved bean harvester of riding type.

Mise au point de l'utilisation et du développement de magnaneries rationnelles dans les mûraies collectives. 6. Etudes sur la moissonneuse auto-portée pour haricots améliorée pour moissonner les pousses de mûriers.

HIRATA A.

Sericultural Experiment Station, Gunma-ken, Maebashi, Japan.

1992 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture, Vol. 9, 27-30. (J)

Studies on biological characteristics of mulberry longicorn (*Apriona germari* Hope) in North China.

Etudes des caractéristiques biologiques du longicorne du mûrier (*Apriona germari* Hope) en Chine du nord.

HUANG D.Z. *et al.*

1995 Canye Kexue, Vol. 21(3), 188-189. (C)

Ecological studies on light interception and photosynthesis of mulberry populations.

Etudes écologiques sur l'interception de la lumière et la photosynthèse dans les populations de mûriers.

ITO D.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 13, 1-142. (J,e)

Determination of carbendazim content in mulberry leaves by UV spectrophotometry.

Détermination du taux de carbendazime dans les feuilles de mûriers par spectrophotométrie UV.

JI F.Y., LI X.D., CHEN R.Y., HUANG Q.

1995 *Zhongshan Daxue Xuebao Ziran Kexueban*, Vol. 34(1), 118-121. (C)

Response of irrigated mulberry (*Morus alba* L.) to VA-mycorrhizal inoculation under graded doses of phosphorus.

Réponse du mûrier irrigué (*Morus alba* L.) à l'inoculation de VA-mycorhize sous des doses graduées de phosphore.

KATIYAR R.S., DAS P.K., CHOUDHURY P.C., GHOSH A., SINGH G.B., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1995 *Plant Soil*, Vol. 170(2), 331-337. (E)

Studies on the breeding of triploid mulberry variety 'Jialing No. 16'.

Etudes sur la sélection de la variété de mûrier triploïde "Jianlin No. 16".

LI C.L.

Southwest Agricultural University, Chongqing, Sichuan, China.

1994 *Scientia Agricultural Sinica (China)*, Vol. 27(6), 61-66. (C,e)

Studies on techniques of bending mulberry branches for increasing leaf yield after summer pruning.

Etudes des techniques d'inclinaison des branches de mûriers pour augmenter le rendement en feuilles après la taille d'été.

LI M.Z. *et al.*

College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(3), 139-144. (C,e)

Chemical control of *Alternaria* leaf spot of mulberry.

Lutte chimique contre les taches d'*Alternaria* sur les feuilles chez le mûrier.

MAGALAXMIDEVAMA M., VIJAYA T., SREERAMULU A.

Department of Botany, Sri Venkateswara University, Tirupati, India.

1992 *Andhra Agricultural Journal (India)*, Vol. 39(1-2), 47-48. (E)

Survival ratio and shoot growth associated with different stocks in mulberry root bark grafting.

Taux de survie et croissance des pousses associés à différentes souches de mûriers greffés sous coulée d'écorce de racines.

NAOI T., RAMA KANT.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 14, 87-93. (J,e)

Viability of mulberry winter buds cryopreserved for 5 years at -135°C.

Viabilité des bourgeons d'hiver de mûrier cryoconservés pendant 5 ans à -135°C.

NIINO T., SHIRATA K., OKA S.

Tohoku National Agricultural Experiment Station, Shinjo, Yamagata 996, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 64(4), 370-374. (E)

Sources of resistance in mulberry to leaf rust.

Les sources de résistance du mûrier à la rouille des feuilles.

PHILIP T., GOVINDAIAH, DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1994 Indian Phytopathology, Vol. 47(2), 201-202. (E)

Effect of indoleacetic acid on rooting behavior of two promising mulberry varieties in Doon Valley, India.

Effet de l'acide indolacétique sur l'enracinement de deux variétés de mûriers prometteuses dans la "Doon Valley", Inde.

SHARMA V.P., GAUR J.P., RAI S.

1994 Indian J. For., Vol. 17(3), 262-266. (E)

A preliminary report on the breeding of a new mulberry variety 'Yu 72-1'.

Rapport préliminaire sur la sélection d'une nouvelle variété de mûrier "Yu 72-1".

SUN X.X., PAN Y.L., ZHANG M.B., LIN S.Y., LU Q.Y., JI B.J.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 Canye Kexue, Vol. 31(3), 150-153. (C,e)

Determination of content of endogenous hormones and its change in mulberry winter buds.

Détermination du taux d'hormones endogènes et de sa variation dans les bourgeons d'hiver du mûrier.

TAN J.Z. *et al.*

1995 Canye Kexue, Vol. 21(3), 193-194. (C)

Study on multi-purpose utilization of mulberry trees: on mulberry syncarp and shoot.

Etude sur l'utilisation multiple des mûriers : les syncarpes et les pousses de mûriers.

TSUNODA H., HIRATA A., KOJIMA S.

Sericultural Experiment Station, Gunma-ken, Maebashi, Japan.

1992 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture, Vol. 9, 47-50. (J)

A preliminary report on biological characteristics of mulberry white fly.

Rapport préliminaire sur les caractéristiques biologiques de la mouche blanche du mûrier.

XU J.S. *et al.*

1995 Canye Kexue, Vol. 21(3), 186-187. (C)

A study on staining-and-clearing technique for examining intact ovary and anther of mulberry.

Etude de la technique de coloration et de nettoyage pour l'examen de l'ovaire intact et de l'anthère du mûrier.

XU X.F. *et al.*

1995 Canye Kexue, Vol. 21(3), 190-192. (C)

The distributional regularity of mulberry thrips on mulberry branches and the investigation of its natural enemies.

La distribution des thrips de mûriers sur les branches de mûriers et enquête sur ses ennemis naturels.

YI F.W., WU M.R., RAO G.S., WEI H.Y., ZHAN G.X.

Institute of Sericulture and Tea of Jiangxi Province, Nanchang 330202, China.

1995 Canye Kexue, Vol. 21(3), 145-149. (C,e)

***Bombyx mori* : élevage, nutrition, pathologie**

***Bombyx mori*: rearing, feeding, pathology**

Uzi fly infestation in silkworm seed cocoons.

Infestation des cocons de vers à soie par la mouche uzi.

DWARAKINATH, RAMANJANEYULU Y.V., THANGAVELU K.
SSPC, Ramanagaram, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(5), 25-27. (E)

Stability of silkworm viruses to long-term refrigeration.

Stabilité des virus du ver à soie en réfrigération à long terme.

FURUTA Y.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(4), 395-398. (J)

Study on the toxicity of atmospheric phenol polluted mulberry leaf to silkworm (*Bombyx mori*). Etude de la toxicité des feuilles de mûriers polluées avec du phénol atmosphérique sur le ver à soie (*Bombyx mori*).

GUAN J.F., PAN R.

Xuguan Silkworm Egg Farm, Suzhou Jiangsu, China.

1994 *Rural Eco-Environment (China)*, Vol. 10(2), 19-21. (C,e)

Effects of synthetic *Bombyx mori* cecropin B on the growth of plant pathogenic bacteria.

Effets de la cécropine B synthétique de *Bombyx mori* sur la croissance des bactéries pathogènes des végétaux.

KADONO-OKUDA K., TANIAI K., KATO Y., KOTANI E., YAMAKAWA M.

1995 *J. Invert. Pathol.*, Vol. 65, 309-310. (E)

The egg of uzi fly, *Exorista sorbillans* (E. *Bombycis* Louis) (Diptera: Tachinidae).

L'oeuf de la mouche uzi, *Exorista sorbillans* (E. *Bombycis* Louis) (Diptera : Tachinidae).

MANJUNATHA H.B., PUTTARAJU H.P.

Jnana Bharathi, Bangalore University, India.

1993 *Applied Entomology and Zoology (Japan)*, Vol. 28(4), 574-577. (E)

Developments of equipment for artificial diet rearing during 1-4 instars.

Développements de l'équipement pour l'élevage sur aliment artificiel du premier au quatrième âge larvaire.

MIYAZAWA F.

Sericultural Experiment Station, Gunma-ken, Maebashi, Japan.

1992 *Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture*, Vol. 9, 61-64. (J)

Rearing with an artificial diet from the 1st to the 3rd instar of the silkworm in sericultural farmers.

Elevage de vers à soie sur aliment artificiel du 1er au 3e âge larvaire chez les sériciculteurs.

MIYAZAWA F.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(4), 385-391. (J,e)

Controlling muscardine.

Lutte contre la muscardine.

NATARAJU B., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(5), 22-23. (E)

An improved method for PCR-based detection of nuclear polyhedrosis virus in *Bombyx mori*.

Une méthode améliorée basée sur la PCR pour la détection du virus de la polyédrose nucléaire chez *Bombyx mori*.

NOGUCHI Y., KOBAYASHI M., SHIMADA T.

Saitama-ken Sericultural Experiment Station, Ishihara, Kumagaya, Saitama 360, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(4), 352-359. (J,e)

Muscardine: silkworm disease of humid seasons.

La muscardine : une maladie des vers à soie pendant les saisons humides.

SARATCHANDRA B.

Central Sericultural Research and Training Institute, CSB, Berhampore 742 101, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(5), 21-24. (E)

Evaluation of protein-A linked monoclonal antibody latex agglutination test for diagnosis of nuclear polyhedrosis virus (BmNPV) of silkworm, *Bombyx mori* L.

Evaluation du test d'agglutination sur latex de l'anticorps monoclonal lié à la protéine A pour le diagnostic du virus de la polyédrose nucléaire (BmNPV) du ver à soie *Bombyx mori* L.

SHAMIN M., BAIG M., NATARAJU B., DATTA R.K., GUPTA S.K.

1995 *J. Immunoassay*, Vol. 16(2), 155-166. (E)

Effect of adding rapeseed bran to the artificial diet for young silkworm, *Bombyx mori*.

Effet de l'adjonction d'issues de colza à l'aliment artificiel des jeunes vers à soie *Bombyx mori*.

TAI N.W. *et al.*

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(3), 195-197. (C)

Study of a pathogenic microsporidium SCM7 (*Endoreticulatus* sp.) isolated from the larvae of silkworm, *Bombyx mori*.

Etude d'une microsporidie pathogène SMC7 (*Endoreticulatus* sp.) isolée à partir des larves du ver à soie *Bombyx mori*.

WANG Y.J., ZHANG L., CHEN Z.P., PAN M.H., DU Y., AO M.J., YANG B.

Southwest Agricultural University, Chongqing 630716, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(3), 168-172. (C,e)

Histopathological observation on the larval midgut cells of the silkworm, *Bombyx mori*, poisoned by NaF.

Observation histopathologique des cellules de l'intestin moyen du ver à soie *Bombyx mori* empoisonné au NaF.

ZHOU C.H., IWASHITA Y., FUKAMI M., KAWASAKI H., KANKE E.

Faculty of Agriculture, Utsunomiya University, Utsunomiya, Tochigo 321, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(4), 344-351. (J,e)

Vers à soie : génétique

Silkworms: genetics

DNA sequence of the polyhedrin gene of a cubic polyhedra mutant of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus.

Séquence d'ADN du gène de la polyédrine d'un mutant à polyèdre cubique du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

CHU R.Y., WANG Q.H., LIN Y.L., PAN N.S., CHEN Z.L.

1993 *Bingdu Xuebao*, Vol. 9(2), 185-189. (C)

TFIIIR is an isoleucin tRNA with an indirect role in silkworm class III transcription *in vitro*.

TFIIIR est un ARNt d'isoleucine avec un rôle indirect dans la transcription de classe III *in vitro* chez le ver à soie.

DUNSTAN H.M.

1994 *PhD, University of Oregon, Eugene, USA*. (E)

U1 snRNA variants coexist in *Bombyx mori* cells.

Coexistence de variants d'ARNsn U1 dans les cellules de *Bombyx mori*.

GAO J.P., HERRERA R.J.

Department of Biological Sciences, Florida International University, Miami, FL 33199, USA.

1995 *Insect Molecular Biology*, Vol. 4(3), 193-202. (E)

Isolation and characterization of the lysozyme-encoding gene from the silkworm, *Bombyx mori*.

Isolement et caractérisation du gène codant pour le lysozyme chez le ver à soie *Bombyx mori*.

LEE W.J., BREY P.T.

Unité d'Ecologie des Systèmes vectoriels, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

1995 *Gene*, Vol. 161, 199-203. (E)

Preferential pairing of sex chromosomes in homotype and heterotype tetraploid silkworm females of sex-limited normal pattern strain, HOMARE.

Appariement préférentiel des chromosomes sexuels chez les femelles de vers à soie tétraploïdes homotypes et hétérotypes de souches à caractère lié au sexe, HOMARE.

SAHARA K., FALAKALI B., KAWAMURA N., IIZUKA T.

Laboratory of Applied Entomolgy, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, N9, W9, Kita-ku, Sapporo 060, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(4), 380-384. (E)

An *in vitro* transcription system from BmN cells of the silkworm, *Bombyx mori*.

Un système de transcription *in vitro* à partir des cellules BmN du ver à soie *Bombyx mori*.

SAKURAI H., IZUMI S., TOMINO S.

1995 *Methods Mol. Biol. (Totowa N.J.)*, Vol. 37, *In vitro transcription and translation protocols*, 233-244. (E)

Stability analysis of economic traits in silkworm (*Bombyx mori* L.) (India).

Analyse de la stabilité des caractères économiques chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.) (Inde).

THIAGARAJAN V., MASILAMANI S., AHSAN M.M., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1994 *Journal of Genetics and Breeding (Italy)*, Vol. 48(4), 345-351. (E)

The breeding of spring silkworm race No 5 & No 4 and the preparation of tetra hybrid 5.4 x 24.46.

La sélection des races de vers à soie de printemps No 5 & No 4 et la préparation des tétra hybrides 5.4 x 24.46.

XI J.M., XIE S.H., YE B., GU Y.Q., HUANG A.M.

Jiangsu Silkworm Egg Company, Wuxi 214005, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(3), 163-167. (C,e)

Construction of a transfer vector pUBM-4 for gene expression in silkworm and expression of beta-galactosidase gene.

Construction d'un vecteur de transfert pUBM-4 pour l'expression des gènes chez le ver à soie et expression du gène de la beta-galactosidase.

ZHANG Y., WU X.F.

1994 *Bingdu Xuebao*, Vol. 10(3), 251-256. (C)

Cloning and partial sequencing of helicase gene in *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus (BmNPV).

Clonage et séquençage partiel du gène de l'hélicase du virus de la polyédrose nucléaire chez *Bombyx mori* (BmNPV).

ZHANG Z.F., ZHANG Y., LU H.S., WU X.F.

1994 *Bingdu Xuebao*, Vol. 10(4), 381-383. (C)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms: physiology, biochemistry

Purification and partial characterization of an induced protein in the silkworm, *Bombyx mori*.

Purification et caractérisation partielle d'une protéine induite chez le ver à soie *Bombyx mori*.

ABRAHAM E.G., NAGARAJU J., SALUNKE D., GUPTA H.M., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1995 *J. Invert. Pathol.*, Vol. 65(1), 14-24. (E)

Cyclopropene fatty acid and imide. Inhibitors of the pheromone biosynthesis in *Bombyx mori*.

Acide gras cyclopropène et imide. Inhibiteurs de la biosynthèse de la phéromone chez *Bombyx mori*.

ANDO T., OHNO R., IKEMOTO K., YAJIMA Y.

1995 *Nippon Nogayaku Gakkaishi*, Vol. 20(1), 25-32. (J)

Translocation of fenoxycarb in the agro-ecosystem.

Translocation du fénoxycarb dans l'agro-écosystème.

ARZONE A., DOLCI M., MARLETTO F., MINERO C.

Department of Entomology and Zoology Applied to the Environment 'Carlo Vidomo', University of Torino, Via Giuria 15, 10126 Torino, Italy.

1995 *Biosci. Biotech. Biochem.*, Vol. 59(7), 1318-1319. (E)

Partial purification and characterization of DOPA quinone imine conversion factor from larval hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*.

Purification partielle et caractérisation du facteur de conversion de la DOPA quinone imine à partir de l'hémolymph du ver à soie *Bombyx mori*.

ASO Y., YAMAMOTO K., YOSHINAGA T., YAMAMOTO H., YAMAGAMI T.

1995 *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, Vol. 59(2), 277-281. (E)

The impact of stress on insect immunity.

L'impact du stress sur l'immunité des insectes.

BREY P.T.

Unité d'Ecologie des Systèmes vectoriels, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

1994 *Bull. Inst. Pasteur*, Vol. 92, 101-118. (E)

Studies on increasing silk amount by using juvenile hormone and ecdysone cooperatively in silkworm.

Etudes sur l'augmentation de la quantité de soie par l'utilisation conjointe d'hormone juvénile et d'ecdysone chez le ver à soie.

CUI W.Z., MU Z.M., ZHANG Y.Y., DUAN H.M., ZHOU W.D., LI F.Q., LIU Y.

Shandong Agricultural University, Taian 271018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(3), 178-183. (C,e)

Immunoreactivity of neurosecretory granules in the brain retrocerebral complex of *Manduca sexta* to heterologous antibodies against *Bombyx* prothoracicotropic hormone and bombyxin.

Immunoréactivité des granules neurosécréteurs dans le complexe rétrocébral du cerveau de *Manduca sexta*, aux anticorps hétérologues contre l'hormone prothoracicotrope de *Bombyx* et la bombyxine.

DAI J.D., MIZOGUCHI A., GILBERT L.I.

1994 *Invert. Reprod. Dev.*, Vol. 26(3), 187-196. (E)

Mode of action of the antibacterial cecropin B2: a spectrofluorometric study.

Mode d'action de la cécropine antibactérienne B2 : une étude spectrofluorométrique.

GAZIT E., LEE W.J., BREY P.T., SHAI Y.

Unité d'Ecologie des Systèmes vectoriels, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

1994 *Biochemistry*, Vol. 33(35), 10681-10692. (E)

Effects of methoprene and 20-hydroxyecdysone on the precocious metamorphosis (of silkworm) induced by 1,5-disubstituted imidazoles.

Effets du méthoprene et de la 20-hydroxyecdysone sur la métamorphose précoce (du ver à soie) induite par les imidazoles 1,5-disubstitués.

KUWANO E., HISANO T., SONODA M., ETO M.

Kyushu University, Fukuoka, Japan.

1994 *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry (Japan)*, Vol. 58(7), 1309-1310. (E)

Quantification of the effect of *Bacillus thuringiensis* toxins on short-circuit current in the midgut of *Bombyx mori*.

Quantification de l'effet des toxines de *Bacillus thuringiensis* sur le courant de court-circuit dans l'intestin moyen de *Bombyx mori*.

LIEBIG B., STETSON D.L., DEAN D.H.

1995 *J. Insect Physiol.*, Vol. 41, 17-22. (E)

Intracellular transduction in the regulation of pheromone biosynthesis of the silkworm, *Bombyx mori*: suggested involvement of calmodulin and phosphoprotein phosphatase.

Transduction intracellulaire dans la régulation de la biosynthèse de la phéromone du ver à soie *Bombyx mori* : implication supposée de la calmoduline et de la phosphoprotéine phosphatase.

MATSUMOTO S., OZAWA R., NAGAMINE T., KIM G.H., UCHIUMI K., SHONO T., MITSUI T.

1995 *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 59(3), 560-562. (E)

Specificities of response to sex pheromone components of olfactory receptor cells in *Antheraea polyphemus* and *A. pernyi*.

Spécificités de la réponse des cellules des récepteurs olfactifs aux composés des phéromones sexuelles chez *Antheraea polyphemus* et *A. pernyi*.

MENG L.Z.

1994 *Kunchong Xuebao*, Vol. 37(3), 257-265. (C)

Attachment and growth of fibroblast cells on silk fibroin.

Fixation et croissance de cellules de fibroblaste sur la fibroïne de soie.

MINOURA N., AIBA S.I., IGUCHI M., GOTOH Y., TSUKADA M., IMAI Y.

1994 *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 208, 511-516. (E)

Diapause response in *Samia cynthia* subspecies and their hybrids (Lepidoptera: Saturniidae).

Diapause dans les sous-espèces de *Samia cynthia* et leurs hybrides (Lepidoptera : Saturniidae).

SAITO H.

Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Japan.

1994 *Applied Entomology and Zoology (Japan)*, Vol. 29(2), 296-298. (E)

Induction of lysosomal activity by beta-ecdysone through beta-galactosidase activity in fat body of *Antheraea mylitta* Drury during larval-pupal transformation.

Induction de l'activité lysosomale par la beta-ecdysone au travers de l'activité de la beta-galactosidase dans le corps gras d'*Antheraea mylitta* Drury au cours de la transformation de la larve en pupa.

SHARAN S.K., SRIVASTAVA P.P., OJHA N.G., BANERJEE N.D., SIGNH M.K., SINHA S.S.

1995 *Indian J. Exp. Biol.*, Vol. 33(2), 122-124. (E)

The *in vitro* release of prothoracicotropic hormone (PTTH) from the brain *corpus cardiacum-corpora allata* complex of silkworm, *Bombyx mori*.

Libération *in vitro* de l'hormone prothoracicotrope (PTTH) à partir du complexe cérébral *corpus cardiacum-corpora allata* du ver à soie *Bombyx mori*.

SHIRAI Y., SHIMAZAKI K., IWASAKI T., MATSUBARA F., MIZONON Y.

1995 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 100C, 143-148. (E)

Molecular characterization of the gene encoding the precursor protein of diapause hormone and pheromone biosynthesis activating neuropeptide (DH-PBAN) of the silkworm, *Bombyx mori* and its distribution in some insects.

Caractérisation moléculaire du gène codant pour la protéine précurseur du neuropeptide activant la biosynthèse de l'hormone de diapause et de la phéromone (DH-PBAN) du ver à soie *Bombyx mori* et sa distribution chez quelques insectes.

XU W.H., SATO Y., IKEDA M., YAMASHITA O.

1995 *Biochem. Biophys. Acta*, Vol. 1261, 83-89. (E)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms: eggs, embryology

Spermiogenesis of the testes of juvenile hormone-treated silkworm larvae, *Bombyx mori*.

Spermiogénèse des testicules des larves traitées avec l'hormone juvénile chez le ver à soie *Bombyx mori*.

KAJIURA Z., NAKAGAKI M., TAKEI R.

Laboratory of Silkworm Genetics and Pathology, Faculty of Textile Science, Shinshu University, Tokida, Ueda 386, Japan.

1993 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 106(3), 495-499. (E)

Isolation and identification of 3-epi-ecdysteroids from diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.

Isolement et identification d'ecdystéroïdes à partir d'oeufs diapausants chez le ver à soie *Bombyx mori*.

KAMBA M., SONOBE H., MAMIYA Y., HARA N., FUJIMOTO Y.

Department of Biology, Faculty of Science, Konan University, Higashinada-ku, Kobe 658, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 64(4), 333-343. (J,e)

Phospholipid and fatty acid composition of lipids of silkworm eggs, mulberry silkworm caterpillars, artificial feed and its components.

Composition en acides gras et phospholipides des lipides des oeufs de vers à soie, des chenilles de ver à soie du mûrier, de l'aliment artificiel et de ses composants.

MADYAROV S.R., KHALMIRZAEV M.M., LATYSHEV N.A., ISAMUKHAMEDOV A.S.

1994 *Khim. Prir. Soedin.*, Vol. 2, 192-197. (R)

Biochemical differences among some selected lines of two different voltinic races of *Bombyx mori*.

Différences biochimiques parmi quelques lignées sélectionnées de deux races de *Bombyx mori* de voltinisme différent.

RAJANNA K.L., PUTTARAJU H.P., MANJULA A.C., YADAV P.R.

1994 *J. Entomol. Res.*, Vol. 18(1), 53-60. (E)

Silkworm yolk proteins and their decomposition control mechanism.

Protéines du vitellus du ver à soie et mécanisme de contrôle de leur décomposition.

YAMAMOTO Y., TAKAHASHI S.Y.

1993 *Hikaku Seiri Seikagaku*, Vol. 10(2), 81-91. (J)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms: silk glands

Separation, purification and kinetic characteristics of GPT in the posterior silk gland of silkworm, *Bombyx mori*.

Séparation, purification et caractéristiques cinétiques du GPT dans la glande séricigène postérieure du ver à soie *Bombyx mori*.

DAI Y.J., HUA G.

1994 *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao*, Vol. 26(4), 403-409. (C)

Studies on polypeptide constitute and molecular weight of sericin in silkworms.

Etudes des composants des polypeptides et poids moléculaire de la sérécine chez les vers à soie.

JIANG Y.L., HUANG J.T., SUN C.R.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(3), 173-177. (C,e)

Partial amino acid sequence of an 11 kDa cocoon shell-type protein.

Séquence partielle d'acides aminés d'une protéine de 11 kDa de la coque soyeuse.

KURIOKA A., HIRANO H.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(4), 392-394. (J)

Effects of indole butyric acid and gibberellin on enzymic activity of glutamic acid - pyroracemic acid transaminase of posterior silk glands in silkworm.

Effets de l'acide indolbutyrique et de la gibbérelline sur l'activité enzymatique de la transaminase acide glutamique - acide pyroracémique des glandes séricigènes chez le ver à soie.

ZHANG Y.Q., LI R.

Suzhou Technological School of Silkworm and Mulberry, Jiangsu, China.

1994 *Jiangsu Sericulture (China)*, Vol. 3, 7-10. (C)

Study on the molecular weight of fibroin and sericin of giant silkworm, *Antheraea yamamai*.

Etude du poids moléculaire de la fibroïne et de la sérécine du ver à soie géant *Antheraea yamamai*.

ZHOU C.Z. et al.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 198-199. (C)

Light-chain fibroin of *Galleria mellonella* L.

Fibroïne à chaîne légère de *Galleria mellonella* L.

ZUROVEC M., VASKOVA M., KODRIK D., KRISHNA KUMARAN A.

Entomological Institute, Academy of Sciences, Branisovska 31, 370 05 Ceske Budejovice, Czech Republic.

1995 *Mol. Gen. Genet.*, Vol. 247, 1-6. (E)

Soie

Silk

Physical properties of the fabrics made of silk tow spun yarn and composite spun yarns using the silk tow and chemical fibers.

Propriétés physiques des tissus faits avec des étoupes de soie filée et des fils de soie mélangés avec des fibres chimiques.

AKAHANE T., TSUBOUCHI K., IMAI T.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci., Vol. 14, 75-86. (J,e)

Reaction of silk fibroin with epoxides under homogeneous conditions in lithium halide - organic amide solvent systems.

Réaction de la fibroïne de soie avec des époxydes en conditions homogènes dans des systèmes de solvants halogénure de lithium - amide organique.

FURUHATA K.I., OKADA A., CHEN Y., XU Y.Y., SAKAMOTO M.

Department of Organic and Polymeric Materials, Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 O-okoyama, Meguro-ku, Tokyo 152, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(4), 360-369. (E)

Halogenation of silk fibroin under homogeneous conditions in lithium halide-organic amide solvent systems.

Halogénéation de la fibroïne de soie sous conditions homogènes dans des systèmes de solvants amide organique-halogénure de lithium.

FURUHATA K.I., OKADA A., NIWA H., SAKAMOTO M.

Department of Organic and Polymeric Materials, Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 O-okoyama, Meguro, Tokyo 152, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(4), 302-309. (E)

Effect of chitosan-treatment on light resistance, heat retention and electrostatic propensity of silk fabrics.

Effet du traitement au chitosan sur la résistance à la lumière, la rétention de chaleur et la propension électrostatique des tissus de soie.

KAKO T., KATAYAMA A.

Himeji Junior College, Himeji 670, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(4), 375-379. (J,e)

Mechanical and crease recovery properties of silk treated with a water-soluble tri-functional epoxide.

Propriétés mécaniques et de rectification des faux plis de la soie traitée avec de l'époxyde tri-fonctionnelle soluble dans l'eau.

KAMIISHI Y., ARAI K.

Textile Research Institute of Gunma, Kiryu, Gunma 376, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(4), 323-332. (J,e)

Study of draft-cut spinning lubricants for silk tow.

Etude des lubrifiants de filage des étoupes de soie.

KATO H., OBO M., NAKAYA A.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 14, 29-39. (J,e)

Development of reeling method for silk tow.

Développement d'une méthode de dévidage des étoupes de soie.

KINOSHITA H., NAKAYA A., SHIMADA M., MIYAJIMA T., KOIKE F.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 14., 9-20. (J,e)

Effect of degumming and bleaching of stained silk fabrics on whiteness and dyeability.

Effet du décreusage et du blanchiment des tissus de soie teints sur la blancheur et l'affinité tinctoriale.

LEE Y.W., LEE K.K., CHUNG I.M., SONG K.E., CHOI K.S.

Sericultural Experiment Station, Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1994 *RDA Journal of Agricultural Science (Korea Republic)*, Vol. 36(2), 705-711. (K,e)

The investigation and correlative analysis on cocoon filament size of silkworm variety resource.

Analyse de la taille du filament du cocon d'une variété de vers à soie.

LIN C.Q., CHEN K.P., WU D.X., WANG P., YAO Q.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(3), 158-162. (C,e)

Relationships between core filaments and sheath fibers in core-spun silk yarns.

Relations entre le filament central et les fibres qui l'entoure dans un filé de soie composite.

MATSUMOTO Y.I., TORIUMI K., HARAKAWA K.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(4), 319-322. (J,e)

Development of technique for the production of silk tow spun yarn.

Développement de la technique de production des étoupes de soie filée.

OBO M., KATO H.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 14, 41-55. (J,e)

Generation of fuzzy rules for classification of cleanness and neatness of raw silk.

Génération d'ensembles flous pour la classification de la propreté et de la netteté de la soie grège.

TAJIMA F., ISHIGURO Y., KINOSHITA H.

Yokohama National University, Hodogaya-ku, Yokohama 240, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(4), 297-301. (J,e)

Weaving test of silk tow spun yarns and basic properties of the fabrics.

Test de tissage des étoupes de soie filée et propriétés principales des tissus.

TAKAHASHI T., KANADA C., MURANO K.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci., Vol. 14, 57-73. (J,e)

Development of instrumentation for silk tow manufacturing.

Développement des matériels pour la manufacture des étoupes de soie.

TOSHIMA Y., ISHIKAWA F.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci., Vol. 14, 21-28. (J,e)

Silk (mulberry silkworm silk) and tussah silk. First 1994 version.

La soie (du ver à soie du mûrier) et la soie tussah. Première version de 1994.

ZAHN H., WULFHORST B., STEFFENS M.

1994 Chemiefasern, Vol. 44(1/2), 40-59. (D)

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

1) Les articles présentés doivent concerner soit des travaux originaux soit des synthèses. Ils doivent être rédigés en français ou en anglais. Ils doivent avoir trait à la sériciculture qui inclut les vers à soie, les plantes nourricières, la filature de la soie quelle que soit la nature des recherches (fondamentales ou appliquées) et des sujets (biochimie, écologie, économie, virologie, génétique, etc.).

2) Les articles doivent être soumis à : **Dr G. CHAVANCY**. Les articles soumis au Rédacteur doivent être inédits et ne doivent pas être présentés pour publication chez un autre éditeur. Les articles acceptés pour publication dans **SERICOLOGIA** ne pourront être publiés ailleurs sous la même forme sans le consentement écrit de l'éditeur.

3) Les manuscrits et illustrations doivent être soumis en double exemplaire, l'auteur conservant une copie. Dans le cas d'une co-rédaction, les auteurs doivent indiquer le nom de celui qui recevra les épreuves.

4) Les manuscrits doivent être dactylographiés avec un double interligne et des marges importantes. Les auteurs sont priés de rédiger des communications aussi concises que possible. Les renvois de bas de page sont à éviter et les caractères en italique ne doivent pas être utilisés pour la mise en relief.

5) L'article doit être présenté de la façon suivante:

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.
- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.

- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.

- Remerciements.

- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4^{ème} édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

Pour les livres, il est nécessaire d'indiquer le nom de l'auteur et ses initiales, la date de publication, le titre, l'édition, le nombre de pages, le nom de l'éditeur et le lieu d'édition.

Dans le texte, les références doivent être indiquées sous la forme suivante : Dupont (1964) ou (Dupont, 1964). Lorsque la référence comprend plus de deux auteurs, par exemple Dupont, Durand et Martin, l'article doit être cité comme Dupont et coll. sauf si cela peut prêter à confusion. Si l'on cite des articles d'un même auteur publiés la même année, ils doivent être distingués par les lettres a, b, etc.

La référence à un article sous presse doit signifier que l'article a été accepté pour publication et elle doit s'écrire de la façon suivante :

SETOYAMA K. (1962) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. J. Seric. Sci. Jpn. Sous presse.

6) Illustrations. Le manuscrit sera accompagné de toutes les illustrations nécessaires mais celles-ci ne doivent pas être insérées dans le texte. Toutes les photographies, graphiques et diagrammes doivent être numérotés consécutivement en chiffres arabes, dans l'ordre de citation du texte.

Les photographies sur papier brillant, ou les épreuves positives (pas de négatifs ou de diapositives) doivent être envoyées si possible sans montage et en nombre limité.

Les cartes, graphiques ou diagrammes doivent être dessinés nettement à l'encre noire sur le papier ou du carton blanc de bonne qualité. Les inscriptions apparaissant sur les illustrations doivent être complètes et de taille suffisante pour permettre une réduction importante si nécessaire.

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 x 19 cm. Au dos de chaque illustration doivent être indiqués le nom de l'auteur, le n° de la figure (en chiffres arabes) et l'orientation de l'illustration si nécessaire.

Les légendes des figures doivent être dactylographiées sur une feuille séparée et non pas au dos de l'original et elles doivent être suffisamment explicites pour éviter que l'on se reporte au texte.

7) Tableaux. Ils doivent être numérotés en chiffres romains et dactylographiés sur des feuilles séparées. Les titres doivent être suffisamment clairs sans qu'il soit nécessaire de se reporter au texte. Tous les tableaux et figures doivent être cités dans le texte.

8) Seules les abréviations normalisées sont autorisées. Lorsque des abréviations particulières sont utilisées, le nom devra d'abord être donné en entier suivi de l'abréviation entre parenthèses.

9) Le nom latin de toutes les espèces étudiées doit être indiqué.

10) Les corrections des épreuves doivent se limiter aux fautes de frappe. Toutes modifications importantes de l'article seront facturées à l'auteur.

11) Un bon de commande de tirés-à-part est fourni en même temps que les épreuves. Les auteurs peuvent ainsi commander des tirés-à-part en renvoyant les épreuves. Il est à noter que 25 tirés-à-part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

1) Papers should be in French or in English and be original contributions or reviews in the field of sericulture including silkworm, host plant, silk reeling, whatever the nature of studies (basic or applied) and topics (biochemistry, ecology, economy, virology, genetics, etc.).

2) Papers should be submitted to: **Dr G. CHAVANCY**. Submission of a paper to the Editor implies that it has not previously been published, that it is not under consideration for publication elsewhere and that, if accepted in *SERICOLOGIA*, it will not be published elsewhere in the same form without the written consent of the Editor.

3) Manuscripts and illustrations should be submitted in duplicate and the author should retain one copy. In the case of multiple ownership, the authors indicate who is to receive the proofs.

4) Manuscripts should be typewritten with double spacing and wide margin. Authors are requested to keep their communication as concise as possible. Footnotes should be avoided and italics should not be used for emphasis.

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.
- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.
- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.

- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.

- Acknowledgements.

- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

For books, the author's names, date of publication, title, edition, number of pages, reference, publisher's name and the place of publication should be given.

In the text, references should be given as Dupont (1964) or (Dupont, 1964). When a citation includes more than two authors, e. g. Dupont, Durand and Martin, the paper should be cited in the text as Dupont *et al.*, provided this is not ambiguous. If papers by the same author(s) in the same year are cited they should be distinguished by the letters a, b, etc.

References to a paper "In press" means that it has been accepted for publication and given as follows:

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* In press.

6) Illustrations. All necessary illustrations should accompany the manuscript but should not be inserted in the text. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively in arabic numerals in the order in which they are referred to in the text.

Glossy photographs or positive prints (not X-ray, negatives or slides) should be sent, unmounted wherever possible, and should be restricted to the minimum necessary.

Charts, graphs or diagrams should be drawn boldly in black ink on good quality white paper or card. Lettering to appear on the illustration should be given in full and should be of sufficient size to allow for considerable reduction where necessary.

Illustrations should not be larger than 14 × 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures would be referred to in the text.

8) Only standard abbreviations should be used. Where specialized abbreviations are used, the name should firstly be given in full with the abbreviation indicated in parentheses.

9) The Latin names should be given for all species used in investigation.

10) Corrections to proofs should be restricted to printer's errors only. Other than these, substantial alterations will be charged to the author.

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 25 free reprints are sent by the Editor.

* * *